

**EXACT ENGLISH LANGUAGE
TRANSLATION
OF THE PAGES AS AMENDED
UNDER PCT ARTICLE 26
CONTAINING PAGES 4-1 AND 4-2
TO BE SUBSTITUTED FOR PAGE
4, FIGS. 1 AND 2 TO BE
SUBSTITUTED FOR ORIGINAL
FIGS. 1 AND 2 AND SEQUENCE
LISTING PAGES 1-26 TO BE
SUBSTITUTED FOR THE ORIGINAL
SEQUENCE LISTING FOR
EXAMINATION IN THIS CASE**

This invention attains the third object by providing an IL-18-suppressor containing as an effective ingredient this IL-18-binding protein.

5 This invention attains the fourth object by providing an agent for susceptible diseases containing as an effective ingredient this IL-18-binding protein.

BRIEF DESCRIPTION OF DRAWINGS

10 FIG. 1. shows peptide maps of the IL-18-binding protein of human origin.

FIG. 2. shows peptide maps of the IL-18-binding protein of mouse origin.

15 FIG. 3. shows a restriction enzyme map of a recombinant DNA comprising a nucleotide sequence encoding the IL-18-binding protein of human origin.

FIG. 4. shows a restriction enzyme map of a recombinant DNA comprising a nucleotide sequence encoding the IL-18-binding protein of mouse origin.

20 In the figures, the meanings of the symbols are as follows:

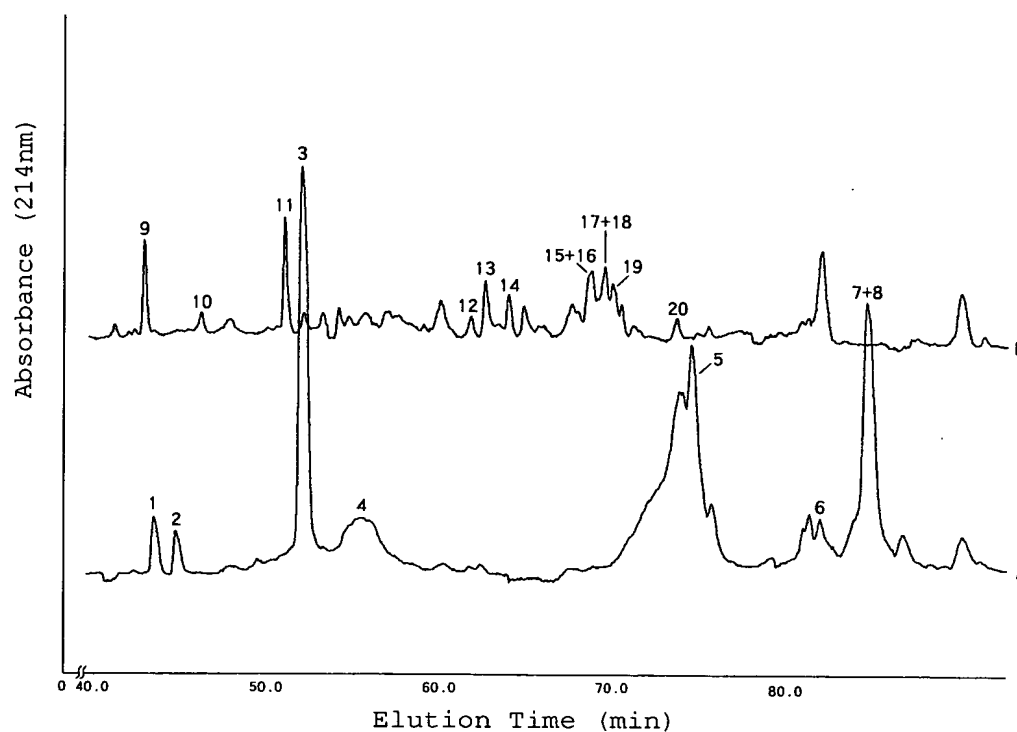
EFH18BPH6 cDNA, cDNA comprising a nucleotide sequence encoding the IL-18-binding protein of human origin;

25 EFM18BPH-MK2 cDNA, cDNA comprising a nucleotide sequence encoding the IL-18-binding protein of mouse origin;

EF1 α P, elongation factor 1 promotor;

Amp, ampicillin-resistant gene; and

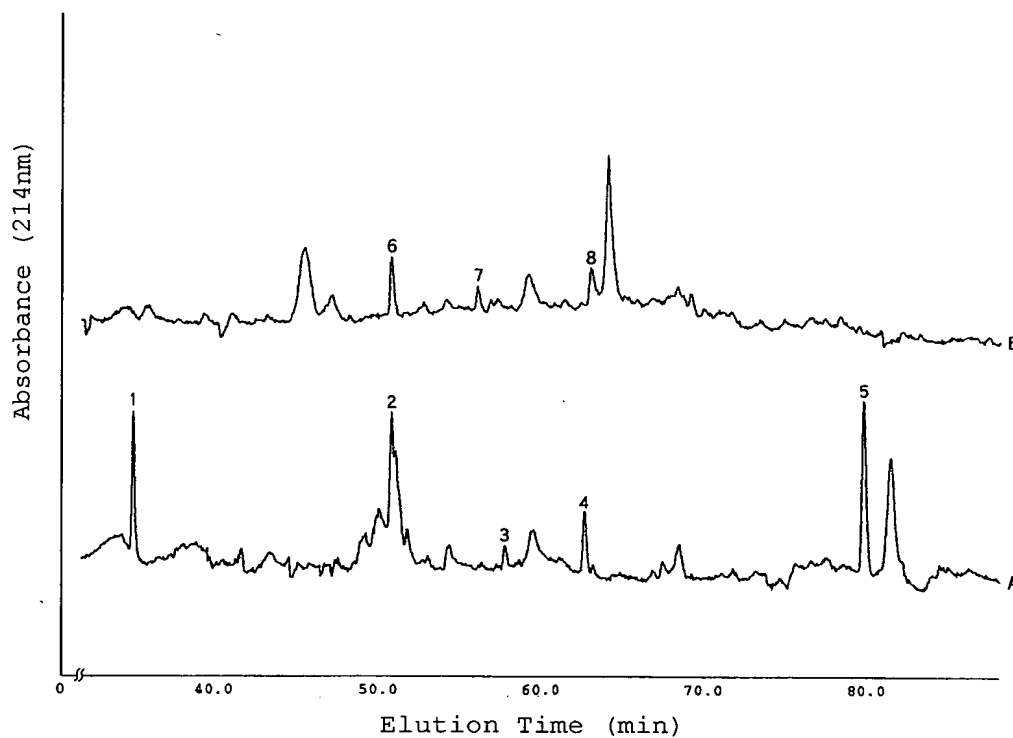
ori, replication origin.



(Note) The chromatogram A is the peptide map obtained after trypsin digestion, and the chromatogram B is that obtained after trypsin-pepsin digestion. The numerals 1 to 20 indicate the eluted positions of the peptide fragments 1 to 20 which were analyzed for amino acid sequence.

FIG. 1.

JCOS Rec'd PCT/PTO 0 1 MAR 2001



(Note) The chromatogram A is the peptide map obtained after trypsin digestion, and the chromatogram B is that obtained after trypsin-pepsin digestion. The numerals 1 to 8 indicate the eluted positions of the peptide fragments 1 to 8 which were analyzed for amino acid sequence.

FIG. 2.

JCOS Rec'd PCT/PTO 0 1 MAR 2001

JCOs rec'd PCT/PTO 01 MAR 2001

JCO Rec'd PCT/PTO 01 MAR 2001

SEQUENCE LISTING

(1) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 1

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 164 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 1

Thr	Pro	Val	Ser	Gln	Thr	Thr	Thr	Ala	Ala	Thr	Ala	Ser	Val	Arg	Ser
1				5					10					15	
Thr	Lys	Asp	Pro	Cys	Pro	Ser	Gln	Pro	Pro	Val	Phe	Pro	Ala	Ala	Lys
				20				25					30		
Gln	Cys	Pro	Ala	Leu	Glu	Val	Thr	Trp	Pro	Glu	Val	Glu	Val	Pro	Leu
			35				40					45			
Asn	Gly	Thr	Leu	Ser	Leu	Ser	Cys	Val	Ala	Cys	Ser	Arg	Phe	Pro	Asn
	50					55					60				
Phe	Ser	Ile	Leu	Tyr	Trp	Leu	Gly	Asn	Gly	Ser	Phe	Ile	Glu	His	Leu
65					70					75					80
Pro	Gly	Arg	Leu	Trp	Glu	Gly	Ser	Thr	Ser	Arg	Glu	Arg	Gly	Ser	Thr
				85					90					95	
Gly	Thr	Gln	Leu	Cys	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	Glu	Gln	Leu	Thr	Pro	Ala
			100					105					110		
Leu	His	Ser	Thr	Asn	Phe	Ser	Cys	Val	Leu	Val	Asp	Pro	Glu	Gln	Val
		115					120					125			
Val	Gln	Arg	His	Val	Val	Leu	Ala	Gln	Leu	Trp	Ala	Gly	Leu	Arg	Ala
	130					135					140				
Thr	Leu	Pro	Pro	Thr	Gln	Glu	Ala	Leu	Pro	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Pro
145					150					155					160

Gln Gln Gln Gly

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 2

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 165 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 2

Thr	Ser	Ala	Pro	Gln	Thr	Thr	Ala	Thr	Val	Leu	Thr	Gly	Ser	Ser	Lys
1				5					10					15	
Asp	Pro	Cys	Ser	Ser	Trp	Ser	Pro	Ala	Val	Pro	Thr	Lys	Gln	Tyr	Pro
				20				25					30		
Ala	Leu	Asp	Val	Ile	Trp	Pro	Glu	Lys	Glu	Val	Pro	Leu	Asn	Gly	Thr
				35				40					45		
Leu	Thr	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Cys	Ser	Arg	Phe	Pro	Tyr	Phe	Ser	Ile
				50				55					60		
Leu	Tyr	Trp	Leu	Gly	Asn	Gly	Ser	Phe	Ile	Glu	His	Leu	Pro	Gly	Arg
				65				70					75		80
Leu	Lys	Glu	Gly	His	Thr	Ser	Arg	Glu	His	Arg	Asn	Thr	Ser	Thr	Trp
				85				90					95		
Leu	His	Arg	Ala	Leu	Val	Leu	Glu	Glu	Leu	Ser	Pro	Thr	Leu	Arg	Ser
				100				105					110		
Thr	Asn	Phe	Ser	Cys	Leu	Phe	Val	Asp	Pro	Gly	Gln	Val	Ala	Gln	Tyr
				115				120					125		
His	Ile	Ile	Leu	Ala	Gln	Leu	Trp	Asp	Gly	Leu	Lys	Thr	Ala	Pro	Ser
				130				135					140		
Pro	Ser	Gln	Glu	Thr	Leu	Ser	Ser	His	Ser	Pro	Val	Ser	Arg	Ser	Ala

145 150 155 160
 Gly Pro Gly Val Ala
 165

(3) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 3

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 22 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: N-terminal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 3

Thr Pro Val Ser Gln Xaa Xaa Xaa Ala Ala Xaa Ala Xaa Val Arg Xaa
 1 5 10 15
 Xaa Lys Asp Pro Cys Pro
 20

(4) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 4

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 9 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 4

Gly Ser Thr Gly Thr Gln Leu Cys Lys
 1 5



(5) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 5

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 11 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 5

Glu Arg Gly Ser Thr Gly Thr Gln Leu Cys Lys

1 5 10

(6) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 6

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 8 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 6

Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg

1 5

(7) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 7

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 15 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: N-terminal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 7

Thr	Pro	Val	Ser	Gln	Xaa	Xaa	Xaa	Ala	Ala	Xaa	Ala	Xaa	Val	Arg
1				5				10					15	

(8) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 8

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 23 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 8

His	Val	Val	Leu	Ala	Gln	Leu	Trp	Ala	Gly	Leu	Arg	Ala	Xaa	Leu	Pro
1				5				10					15		
Xaa Xaa Gln Glu Ala Leu Pro															
20															

(9) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 9

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 10 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 9

Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Xaa Xaa Ala

1 5 10

(10) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 10

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 29 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 10

Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala Leu His Xaa Xaa Xaa Phe

1 5 10 15

Xaa Xaa Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val Val Gln Arg

20 25

(11) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 11

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 12 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 11

Gln Cys Pro Ala Xaa Glu Val Thr Trp Xaa Glu Val

1 5 10

(12) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 12

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 7 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 12

Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg

1 5

(13) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 13

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 6 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 13

Leu Val Asp Pro Glu Gln

1 5

(14) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 14

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 7 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: internal fragment
- (Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 14

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg

1 5

(15) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 15

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 4 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: internal fragment
- (Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 15

His Val Val Leu

1

(16) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 16

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 7 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: internal fragment
- (Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 16

Glu Gln Leu Thr Pro Ala Leu

1 5

(17) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 17

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 8 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 17

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg Leu

1 5

(18) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 18

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 6 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 18

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly

1 5

10/29

(19) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 19

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 4 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 19

Phe Pro Asn Phe

1

(20) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 20

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 8 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 20

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly Xaa Phe

1

5

(21) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 21

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 7 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear



11/29

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 21

Glu Val Thr Xaa Xaa Glu Val

1

5

(22) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 22

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 8 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 22

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly Xaa Phe

1

5

(23) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 23

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 11 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 23

Xaa Xaa Val Ala Xaa Xaa Arg Phe Pro Asn Phe

1

5

10

(24) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 24

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 8 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 24

Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg

1

5

(25) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 25

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 11 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 25

Glu His Arg Xaa Thr Ser Thr Trp Leu His Arg

1

5

10

(26) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 26

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 10 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 26

Glu His Arg Xaa Thr Ser Thr Xaa Leu His

1 5 10

(27) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 27

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 13 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 27

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Val Pro Thr Lys

1 5 10

(28) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 28

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 12 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 28

Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg
 1 5 10

(29) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 29

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 7 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 29

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg
 1 5

(30) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 30

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 6 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 30

Xaa Asp Gly Leu Lys Thr
 1 5

(31) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 31

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 4 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: internal fragment

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 31

His Ile Ile Leu

1

(32) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 32

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 492 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: human

(B) TISSUE TYPE: liver

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat peptide

(B) LOCATION: 1..492

(C) IDENTIFICATION METHOD: E

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 32

ACA CCT GTC TCG CAG ACC ACC ACA GCT GCC ACT GCC TCA GTT AGA AGC

48

Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser

1	5	10	15	
ACA AAG GAC CCC TGC CCC TCC CAG CCC CCA GTG TTC CCA GCA GCT AAG				96
Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys				
20	25	30		
CAG TGT CCA GCA TTG GAA GTG ACC TGG CCA GAG GTG GAA GTG CCA CTG				144
Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu				
35	40	45		
AAT GGA ACG CTG AGC TTA TCC TGT GTG GCC TGC AGC CGC TTC CCC AAC				192
Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn				
50	55	60		
TTC AGC ATC CTC TAC TGG CTG GGC AAT GGT TCC TTC ATT GAG CAC CTC				240
Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu				
65	70	75	80	
CCA GGC CGA CTG TGG GAG GGG AGC ACC AGC CGG GAA CGT GGG AGC ACA				288
Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr				
85	90	95		
GGT ACG CAG CTG TGC AAG GCC TTG GTG CTG GAG CAG CTG ACC CCT GCC				336
Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala				
100	105	110		
CTG CAC AGC ACC AAC TTC TCC TGT GTG CTC GTG GAC CCT GAA CAG GTT				384
Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val				
115	120	125		
GTC CAG CGT CAC GTC GTC CTG GCC CAG CTC TGG GCT GGG CTG AGG GCA				432
Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala				
130	135	140		
ACC TTG CCC CCC ACC CAA GAA GCC CTG CCC TCC AGC CAC AGC AGT CCA				480
Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro				
145	150	155	160	
CAG CAG CAG GGT				492

Gln Gln Gln Gly

(33) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 33

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 495 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: mouse

(B) TISSUE TYPE: liver

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat peptide

(B) LOCATION: 1..495

(C) IDENTIFICATION METHOD: E

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 33

ACA	TCT	GCA	CCT	CAG	ACA	ACT	GCC	ACT	GTC	TTA	ACT	GGA	AGC	TCA	AAA	48
Thr	Ser	Ala	Pro	Gln	Thr	Thr	Ala	Thr	Val	Leu	Thr	Gly	Ser	Ser	Lys	
1				5					10					15		
GAC	CCA	TGC	TCT	TCC	TGG	TCT	CCA	GCA	GTC	CCA	ACT	AAG	CAG	TAC	CCA	96
Asp	Pro	Cys	Ser	Ser	Trp	Ser	Pro	Ala	Val	Pro	Thr	Lys	Gln	Tyr	Pro	
			20					25					30			
GCA	CTG	GAT	GTG	ATT	TGG	CCA	GAA	AAA	GAA	GTG	CCA	CTG	AAT	GGA	ACT	144
Ala	Leu	Asp	Val	Ile	Trp	Pro	Glu	Lys	Glu	Val	Pro	Leu	Asn	Gly	Thr	
		35					40					45				
CTG	ACC	TTG	TCC	TGT	ACT	GCC	TGC	AGC	CGC	TTC	CCC	TAC	TTC	AGC	ATC	192

Leu	Thr	Leu	Ser	Cys	Thr	Ala	Cys	Ser	Arg	Phe	Pro	Tyr	Phe	Ser	Ile		
50				55				60									
CTC	TAC	TGG	CTG	GGC	AAT	GGT	TCC	TTC	ATT	GAG	CAC	CTT	CCA	GGC	CGG	240	
Leu	Tyr	Trp	Leu	Gly	Asn	Gly	Ser	Phe	Ile	Glu	His	Leu	Pro	Gly	Arg		
65				70				75								80	
CTG	AAG	GAG	GGC	CAC	ACA	AGT	CGC	GAG	CAC	AGG	AAC	ACA	AGC	ACC	TGG	288	
Leu	Lys	Glu	Gly	His	Thr	Ser	Arg	Glu	His	Arg	Asn	Thr	Ser	Thr	Trp		
				85				90				95					
CTG	CAC	AGG	GCC	TTG	GTG	CTG	GAA	GAA	CTG	AGC	CCC	ACC	CTA	CGA	AGT	336	
Leu	His	Arg	Ala	Leu	Val	Leu	Glu	Glu	Leu	Ser	Pro	Thr	Leu	Arg	Ser		
100								105				110					
ACC	AAC	TTC	TCC	TGT	TTG	TTT	GTG	GAT	CCT	GGA	CAA	GTG	GCC	CAG	TAT	384	
Thr	Asn	Phe	Ser	Cys	Leu	Phe	Val	Asp	Pro	Gly	Gln	Val	Ala	Gln	Tyr		
115								120				125					
CAC	ATC	ATT	CTG	GCC	CAG	CTC	TGG	GAT	GGG	TTG	AAG	ACA	GCT	CCG	TCC	432	
His	Ile	Ile	Leu	Ala	Gln	Leu	Trp	Asp	Gly	Leu	Lys	Thr	Ala	Pro	Ser		
130								135				140					
CCT	TCT	CAA	GAA	ACC	CTC	TCT	AGC	CAC	AGC	CCA	GTA	TCC	AGA	TCA	GCA	480	
Pro	Ser	Gln	Glu	Thr	Leu	Ser	Ser	His	Ser	Pro	Val	Ser	Arg	Ser	Ala		
145								150				155				160	
GGC	CCA	GGG	GTT	GCA												495	
Gly	Pro	Gly	Val	Ala													
				165													

(34) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 34

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 411 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: human

(B) TISSUE TYPE: liver

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 34

ACA CCT GTC TCG CAG ACC ACC ACA GCT GCC ACT GCC TCA GTT AGA AGC	48
Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser	
1 5 10 15	
ACA AAG GAC CCC TGC CCC TCC CAG CCC CCA GTG TTC CCA GCA GCT AAG	96
Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys	
20 25 30	
CAG TGT CCA GCA TTG GAA GTG ACC TGG CCA GAG GTG GAA GTG CCA CTG	144
Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu	
35 40 45	
AAT GGA ACG CTG AGC TTA TCC TGT GTG GCC TGC AGC CGC TTC CCC AAC	192
Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn	
50 55 60	
TTC AGC ATC CTC TAC TGG CTG GGC AAT GGT TCC TTC ATT GAG CAC CTC	240
Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu	
65 70 75 80	
CCA GGC CGA CTG TGG GAG GGG AGC ACC AGC CGG GAA CGT GGG AGC ACA	288
Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr	
85 90 95	
GGT ACG CAG CTG TGC AAG GCC TTG GTG CTG GAG CAG CTG ACC CCT GCC	336
Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala	
100 105 110	



CTG CAC AGC ACC AAC TTC TCC TGT GTG CTC GTG GAC CCT GAA CAG GTT 384
 Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val
 115 120 125
 GTC CAG CGT CAC GTC GTC CTG GCC CAG 411
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln
 130 135

(35) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 35

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 216 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: double
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

- (A) ORGANISM: human
- (B) TISSUE TYPE: liver

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 35

TGTGTGACTG GAGAAGAGGA CGTTGTCACA GATAAAGAGC CAGGCTCACC AGCTCCTGAC 60
 GCATGCATC ATG ACC ATG AGA CAC AAC TGG ACA CCA GAC CTC AGC CCT TTG 111
 Met Thr Met Arg His Asn Trp Thr Pro Asp Leu Ser Pro Leu
 1 5 10
 TGG GTC CTG CTC CTG TGT GCC CAC GTC GTC ACT CTC CTG GTC AGA GCC 159
 Trp Val Leu Leu Leu Cys Ala His Val Val Thr Leu Leu Val Arg Ala
 15 20 25 30
 ACA CCT GTC TCG CAG ACC ACC ACA GCT GCC ACT GCC TCA GTT AGA AGC 207
 Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser



45

ACA AAG GAC

216

Thr Lys Asp

(36) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 36

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 234 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: human

(B) TISSUE TYPE: liver

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 36

[illegible]

(37) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 37

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 744 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: human

(B) TISSUE TYPE: liver

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat peptide

(B) LOCATION: 160..651

(C) IDENTIFICATION METHOD: E

(Xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 37

```

TGTGTGACTG GAGAAGAGGA CGTTGTCACA GATAAAGAGC CAGGCTCACC AGCTCCTGAC   60
GCATGCATC ATG ACC ATG AGA CAC AAC TGG ACA CCA GAC CTC AGC CCT TTG   111
      Met Thr Met Arg His Asn Trp Thr Pro Asp Leu Ser Pro Leu
      -30                -25                -20

TGG GTC CTG CTC CTG TGT GCC CAC GTC GTC ACT CTC CTG GTC AGA GCC   159
Trp Val Leu Leu Leu Cys Ala His Val Val Thr Leu Leu Val Arg Ala
      -15                -10                -5

ACA CCT GTC TCG CAG ACC ACC ACA GCT GCC ACT GCC TCA GTT AGA AGC   207
Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser
      1                5                10                15

ACA AAG GAC CCC TGC CCC TCC CAG CCC CCA GTG TTC CCA GCA GCT AAG   255
Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys

```



20	25	30	
CAG TGT CCA GCA TTG GAA GTG ACC TGG CCA GAG GTG GAA GTG CCA CTG			303
Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu			
35	40	45	
AAT GGA ACG CTG AGC TTA TCC TGT GTG GCC TGC AGC CGC TTC CCC AAC			351
Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn			
50	55	60	
TTC AGC ATC CTC TAC TGG CTG GGC AAT GGT TCC TTC ATT GAG CAC CTC			399
Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu			
65	70	75	80
CCA GGC CGA CTG TGG GAG GGG AGC ACC AGC CGG GAA CGT GGG AGC ACA			447
Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr			
85	90	95	
GGT ACG CAG CTG TGC AAG GCC TTG GTG CTG GAG CAG CTG ACC CCT GCC			495
Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala			
100	105	110	
CTG CAC AGC ACC AAC TTC TCC TGT GTG CTC GTG GAC CCT GAA CAG GTT			543
Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val			
115	120	125	
GTC CAG CGT CAC GTC GTC CTG GCC CAG CTC TGG GCT GGG CTG AGG GCA			591
Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala			
130	135	140	
ACC TTG CCC CCC ACC CAA GAA GCC CTG CCC TCC AGC CAC AGC AGT CCA			639
Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro			
145	150	155	160
CAG CAG CAG GGT TAAGACTCAG CACAGGGCCA GCAGCAGCAC AACCTTGACC			691
Gln Gln Gln Gly			
AGAGCTTGGG TCCTACCTGT CTACCTGGAG TGAACAGTCC CTGACTGCCT GTA			744

(38) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 38

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 351 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: mouse

(B) TISSUE TYPE: liver

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 38

GCA GTC CCA ACT AAG CAG TAC CCA GCA CTG GAT GTG ATT TGG CCA GAA	48
Ala Val Pro Thr Lys Gln Tyr Pro Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu	
1 5 10 15	
AAA GAA GTG CCA CTG AAT GGA ACT CTG ACC TTG TCC TGT ACT GCC TGC	96
Lys Glu Val Pro Leu Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys	
20 25 30	
AGC CGC TTC CCC TAC TTC AGC ATC CTC TAC TGG CTG GGC AAT GGT TCC	144
Ser Arg Phe Pro Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser	
35 40 45	
TTC ATT GAG CAC CTT CCA GGC CGG CTG AAG GAG GGC CAC ACA AGT CGC	192
Phe Ile Glu His Leu Pro Gly Arg Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg	
50 55 60	
GAG CAC AGG AAC ACA AGC ACC TGG CTG CAC AGG GCC TTG GTG CTG GAA	240
Glu His Arg Asn Thr Ser Thr Trp Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu	
65 70 75 80	
GAA CTG AGC CCC ACC CTA CGA AGT ACC AAC TTC TCC TGT TTG TTT GTG	288

Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg Ser Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val
 85 90 95
 GAT CCT GGA CAA GTG GCC CAG TAT CAC ATC ATT CTG GCC CAG CTC TGG 336
 Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp
 100 105 110
 GAT GGG TTG AAG ACA 351
 Asp Gly Leu Lys Thr
 115

(39) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 39

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 336 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: mouse

(B) TISSUE TYPE: liver

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 39

CTGAGCCTTA GAGCTCCAAG AAGCTATTCG GGGCTTAGGA GCCAGAAGCT GACTGCTGCC 60
 TGGCCTTCCC AGAAGGAGGC TGGCAAGCTG GCAAACGGAC TGTTGCTTCC CAGAGGAAGT 120
 CACAGACACC AGACTTGCTT GCAAGTCATC ATG ACC ATG AGA CAC TGC TGG ACA 174
 Met Thr Met Arg His Cys Trp Thr
 1 5
 GCA GGC CCC AGT TCT TGG TGG GTC CTG CTT TTG TAT GTC CAT GTC ATT 222
 Ala Gly Pro Ser Ser Trp Trp Val Leu Leu Leu Tyr Val His Val Ile

10	15	20	
TTG GCC AGA GCC ACA TCT GCA CCT CAG ACA ACT GCC ACT GTC TTA ACT			270
Leu Ala Arg Ala Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr			
25	30	35	40
GGA AGC TCA AAA GAC CCA TGC TCT TCC TGG TCT CCA GCA GTC CCA ACT			318
Gly Ser Ser Lys Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr			
45	50	55	
AAG CAG TAC CCA GCA CTG			336
Lys Gln Tyr Pro Ala Leu			
60			

(40) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 40

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 253 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: double
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

- (A) ORGANISM: mouse
- (B) TISSUE TYPE: liver

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 40

GAT CCT GGA CAA GTG GCC CAG TAT CAC ATC ATT CTG GCC CAG CTC TGG	48		
Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp			
1	5	10	15
GAT GGG TTG AAG ACA GCT CCG TCC CCT TCT CAA GAA ACC CTC TCT AGC	96		
Asp Gly Leu Lys Thr Ala Pro Ser Pro Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser			

20	25	30	
CAC AGC CCA GTA TCC AGA TCA GCA GGC CCA GGG GTT GCA TAAAGCCAAC			145
His Ser Pro Val Ser Arg Ser Ala Gly Pro Gly Val Ala			
35	40	45	
CACACCATGA CCTTGACCAG AGCCTGGCTC TCATCTACCT GGAGGGTGGA GTCTACACCA			205
TAGGCTGTGA TTGCCTTTCT GCTGCTGAAC CTCAAACCTCA AGCTTCAC			253

(41) INFORMATION FOR SEQ ID NO: 41

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 847 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: double

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: cDNA to mRNA

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: mouse

(B) TISSUE TYPE: liver

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat peptide

(B) LOCATION: 235..729

(C) IDENTIFICATION METHOD: E

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 41

CTGAGCCTTA GAGCTCCAAG AAGCTATTCG GGGCTTAGGA GCCAGAAGCT GACTGCTGCC	60
TGCCCTTCCC AGAAGGAGGC TGGCAAGCTG GCAAACGGAC TGTGCTTCC CAGAGGAAGT	120
CACAGACACC AGACTTGCTT GCAAGTCATC ATG ACC ATG AGA CAC TGC TGG ACA	174
Met Thr Met Arg His Cys Trp Thr	



GCA GGC CCC AGT TCT TGG TGG GTC CTG CTT TTG TAT GTC CAT GTC ATT	222
Ala Gly Pro Ser Ser Trp Trp Val Leu Leu Leu Tyr Val His Val Ile	
-20 -15 -10 -5	
TTG GCC AGA GCC ACA TCT GCA CCT CAG ACA ACT GCC ACT GTC TTA ACT	270
Leu Ala Arg Ala Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr	
1 5 10	
GGA AGC TCA AAA GAC CCA TGC TCT TCC TGG TCT CCA GCA GTC CCA ACT	318
Gly Ser Ser Lys Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr	
15 20 25	
AAG CAG TAC CCA GCA CTG GAT GTG ATT TGG CCA GAA AAA GAA GTG CCA	366
Lys Gln Tyr Pro Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu Lys Glu Val Pro	
30 35 40	
CTG AAT GGA ACT CTG ACC TTG TCC TGT ACT GCC TGC AGC CGC TTC CCC	414
Leu Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys Ser Arg Phe Pro	
45 50 55 60	
TAC TTC AGC ATC CTC TAC TGG CTG GGC AAT GGT TCC TTC ATT GAG CAC	462
Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His	
65 70 75	
CTT CCA GGC CGG CTG AAG GAG GGC CAC ACA AGT CGC GAG CAC AGG AAC	510
Leu Pro Gly Arg Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg Glu His Arg Asn	
80 85 90	
ACA AGC ACC TGG CTG CAC AGG GCC TTG GTG CTG GAA GAA CTG AGC CCC	558
Thr Ser Thr Trp Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro	
95 100 105	
ACC CTA CGA AGT ACC AAC TTC TCC TGT TTG TTT GTG GAT CCT GGA CAA	606
Thr Leu Arg Ser Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val Asp Pro Gly Gln	
110 115 120	
GTG GCC CAG TAT CAC ATC ATT CTG GCC CAG CTC TGG GAT GGG TTG AAG	654
Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp Asp Gly Leu Lys	

PCT

世界知的所有権機関
国際事務局

特許条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 C07K 14/54, C12P 21/02, C12N 15/24, A61K 38/20	A1	(11) 国際公開番号 WO00/12555 (43) 国際公開日 2000年3月9日(09.03.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/05186 (22) 国際出願日 1998年11月18日(18.11.98) (30) 優先権データ 特願平10/247588 1998年9月1日(01.09.98) JP 特願平10/327914 1998年11月18日(18.11.98) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社 林原生物化学研究所 (KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO)[JP/JP] 〒700-0907 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 Okayama, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 鳥越角二(TORIGOE, Kakuji)[JP/JP] 〒710-0133 岡山県倉敷市藤戸町藤戸1343番地の5 Okayama, (JP) 谷合まどか(TANIAI, Madoka)[JP/JP] 〒700-0802 岡山県岡山市三野2丁目12番44号 Okayama, (JP) 栗本雅司(KURIMOTO, Masashi)[JP/JP] 〒700-0011 岡山県岡山市学南町2丁目7番25号 Okayama, (JP)		(81) 指定国 BR, CA, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE) 添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title: INTERLEUKIN 18-BINDING PROTEIN (54) 発明の名称 インターロイキン-18結合蛋白質 (57) Abstract A protein containing a specific amino acid sequence which binds to IL-18 and thus regulates the physiological actions thereof; a DNA encoding this protein; and IL-18 regulators and drugs for sensitivity diseases containing the above IL-18-binding protein as the active ingredient.		

(57)要約

本発明は、IL-18に結合することによってその生理作用を抑制する物質とその用途、さらには、その物質をコードするDNAの提供を課題とし、特定のアミノ酸配列を含有するIL-18結合蛋白質と、その蛋白質をコードするDNAと、有効成分としてIL-18結合蛋白質を含有するIL-18抑制剤及び抗感受性疾患剤を提供することにより該解決するものである。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AL	アルバニア	EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LK	スリランカ	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
BB	ボズニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BF	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BG	ブルガナ・ファン	GH	ガーナ	MA	モロッコ	TG	トーゴ
BJ	ブルガリア	GN	ガンビア	MC	モナコ	TJ	タジキスタン
BR	ベナン	GW	ギニア・ビサウ	MD	モルドヴァ	TZ	タンザニア
BY	ブラジル	GR	ギリシャ	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
CA	ベラルーシ	HR	クロアチア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
CC	カナダ	HU	ハンガリー	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
CF	中央アフリカ	ID	インドネシア	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	IE	アイルランド	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IL	イスラエル	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IN	インド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IS	アイスランド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CN	中国	IT	イタリア	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CR	コスタ・リカ	JP	日本	NO	ノールウェー	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KR	韓国	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク						

明細書

インターロイキン－１８結合蛋白質

５ 技術分野

この発明は新規なサイトカン結合蛋白質、とりわけ、インターロイキン－１８結合蛋白質に関する。

背景技術

- １０ インターロイキン－１８（以下、「ＩＬ－１８」と略記する。）は、免疫系における情報伝達物質であるサイトカインの１種である。特開平８－２７１８９号公報、特開平８－１９３０９８号公報及びハルキ・オカムラら『ネイチャー』、第３７８巻、第６，５５２号、８８乃至９１頁（１９９５年）に見られるように、ＩＬ－１８は、発見当初、「インターフェロナー誘導因子（ＩＧＩＦ）」と呼称されていたが、その後、
- １５ シンペイ・ウシオら『ザ・ジャーナル・オブ・イムノロジー』、第１５６巻、４，２７４乃至４，２７９頁（１９９６年）における提案にしたがって、「ＩＬ－１８（インターロイキン－１８）」と呼称されるようになった。アンガス・ダブリュ・トムソン編『ザ・サイトカイン・ハンドブック』、第３版、アカデミック・プレス・リミテッド発行、４６５
- ２０ 乃至４８９頁に記載されているように、成熟型のＩＬ－１８は１５７個のアミノ酸からなり、免疫担当細胞において生理活性物質として有用なインターフェロナー（以下、「ＩＦＮ－γ」と略記する。）の産生を誘導する性質と、キラー細胞の細胞障害性を増強したり、キラー細胞そのものの生成を誘導する性質を兼備している。これらの性質ゆえに、
- ２５ ＩＬ－１８は抗ウイルス剤、抗菌剤、抗腫瘍剤、抗免疫疾患剤などの医薬

品として広範な用途が期待され、現在、その実用化を目指して鋭意研究が進められている。

前述のとおり、 $IL-18$ にかぎらず、サイトカインは、本来、免疫系における情報伝達を担う物質として産生され、分泌される。したがって、 $IL-18$ が哺乳類の体内で過剰に産生されたり、外部から過剰に投与されたりすると、免疫系のバランスに偏りを生じ、生体にとって有害な免疫反応を惹起する可能性がある。例えば、特開平10-96730号公報などにみられるように、最近の知見は、慢性関節リウマチを含む自己免疫疾患の患者が、 $IL-18$ の体液レベルにおいて、健常者より有意に高いことを示している。このことは、 $IL-18$ がある種の疾患の発症に直接又は間接に関与していることを物語っている。したがって、斯界においては、 $IL-18$ そのものの生理作用の解明や実用化に加えて、 $IL-18$ の生理作用を抑制する物質が一刻も早く解明され、実用化されることが期待されている。

15 斯かる状況に鑑み、この発明の第一の課題は、 $IL-18$ の生理作用を抑制する性質を有し、医薬品としてヒトを含む哺乳類に適用可能な物質を提供することにある。

さらに、この発明の第二の課題は、斯かる物質をコードするDNAを提供することにある。

20 加えて、この発明の第三の課題は、斯かる物質の $IL-18$ 抑制剤としての用途を提供することにある。

さらに加えて、この発明の第四の課題は、斯かる物質の医薬品としての用途を提供することにある。

25 発明の開示

本発明者がこれらの課題を解決すべく鋭意研究したところ、 $IL-1$

8に結合することによってその生理作用を抑制する物質が哺乳類の体液中に存在することを突き止めた。本発明者がこの物質を分離し、性質・性状を調べたところ、その本質は蛋白質であり、単離された状態でもIL-18に結合し、その生理作用を顕著に抑制することを見出した。さらに、斯くして存在が確認されたIL-18結合蛋白質は、ヒトを含む哺乳類に投与すると、自己免疫疾患、炎症性疾患及びアレルギー疾患を含む、過剰な免疫反応に起因する諸種の疾患の治療・予防に効果を発揮することも見出した。

すなわち、この発明は、前記第一の課題を、配列表における配列番号1及び2に示すいずれかのアミノ酸配列の全部又は一部を含有するIL-18結合蛋白質を提供することにより解決するものである。

さらに、この発明は、前記第二の課題を、斯かるIL-18結合蛋白質をコードするDNAを提供することにより解決するものである。

加えて、この発明は、前記第三の課題を、有効成分として、斯かるIL-18結合蛋白質を含有するIL-18抑制剤を提供することにより解決するものである。

さらに加えて、この発明は、前記第四の課題を、有効成分として、斯かるIL-18結合蛋白質を含有する抗感受性疾患剤を提供することにより解決するものである。

20

図面の簡単な説明

第1図は、ヒト由来のIL-18結合蛋白質のペプチドマップである。図において、クロマトグラムA及びクロマトグラムBは、それぞれ、トリプシン消化後及びトリプシン/ペプシン消化後に得られたペプチドマップである。図中、1乃至20は、それぞれ、アミノ酸配列を解析したペプチド断片1乃至20の溶出位置を示している。

25

第2図は、マウス由来のIL-18結合蛋白質のペプチドマップである。図において、クロマトグラムA及びクロマトグラムBは、それぞれ、トリプシン消化後及びトリプシン／ペプシン消化後に得られたペプチドマップである。図中、1乃至8は、それぞれ、アミノ酸配列を解析した

5 ペプチド断片1乃至8の溶出位置を示している。

第3図は、ヒト由来のIL-18結合蛋白質をコードする塩基配列を含む組換えDNAの構造を示す制限酵素地図である。

第4図は、マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードする塩基配列を含む組換えDNAの構造を示す制限酵素地図である。

なお、図において、以下の符号は、それぞれ以下のものを表す。

5	EFH18BPH6 cDNA	ヒト由来のIL-18結合蛋白質をコードする塩基配列を含むcDNA
	EFM18BPH-MK2 cDNA	マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードする塩基配列を含むcDNA
10	EF1 α P	延長因子1プロモーター
	Amp	アンピシリン耐性遺伝子
	ori	複製起点

発明を実施する最良の形態

- 15 以下、この発明の実施の形態について説明すると、この発明の蛋白質は、IL-18に結合することによってその生理作用を抑制する性質と、独特のアミノ酸配列により特徴付けられる。すなわち、この発明のIL-18結合蛋白質は、IL-18に作用させると、IL-18の代表的な生理作用である、免疫担当細胞においてIFN- γ の産生を誘導する
- 20 作用を抑制する。また、当該IL-18結合蛋白質は、IL-18に結合させると、IL-18の生理作用によるキラー細胞の細胞障害性の増強や、キラー細胞の生成の誘導を抑制する場合がある。この発明のIL-18結合蛋白質は配列表における配列番号1及び2に示すいずれかのアミノ酸配列の全部又は一部を含んでなり、例えば、ヒト由来のIL-
- 25 18結合蛋白質は、部分アミノ酸配列として、配列表における配列番号3乃至23に示すアミノ酸配列の全部又は一部を、また、マウス由来の

IL-18結合蛋白質は配列表における配列番号24乃至31に示すアミノ酸配列の全部又は一部をそれぞれ含有する。この発明のIL-18結合蛋白質は、尿や血液などの体液においては、通常、可溶性糖蛋白質として存在し、還元剤存在下のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動（以下、「SDS-PAGE」と略記する。）を適用すると、分子量約40,000乃至60,000ダルトンにIL-18結合能を伴う蛋白質のバンドを示す。

この発明のIL-18結合蛋白質は、斯かる特徴を指標にして、哺乳類の体液や細胞から得ることができる。個々の体液としては、血液、リンパ液、腹腔内液、尿などが挙げられ、また、細胞としては、上皮細胞、内皮細胞、間質細胞、軟骨細胞、単球、顆粒球、リンパ球、神経細胞及びそれらを培養株化して得られる細胞株が挙げられる。経済性を問題にするのであれば、この発明のIL-18結合蛋白質をコードするDNAに組換えDNA技術を適用するのが有利である。この発明のIL-18結合蛋白質をコードするDNAは、配列番号1乃至31に示すアミノ酸配列に基づき哺乳類の遺伝子を検索することにより得ることができる。例えば、この発明のIL-18結合蛋白質をコードするヒト由来のDNAは、通常、配列表における配列番号32に示す塩基配列の全部又は一部を、また、マウス由来のDNAは、通常、配列表における配列番号33に示す塩基配列の全部又は一部をそれぞれ含有する。斯かるDNAにより形質転換した動物及び微生物由来の宿主は、常法にしたがって培養することにより、この発明のIL-18結合蛋白質を高収量で産生する。動物由来の宿主の具体例としては、例えば、3T3細胞（ATCC CCL-92）、C1271細胞（ATCC CRL-1616）、CHO-K1細胞（ATCC CCL-61）、CV-1細胞（ATCC CCL-70）、COS-1細胞（ATCC CRL-1650）、H

e L a細胞（ATCC CCL-2）、MOP 8細胞（ATCC CRL-1709）及びそれらの変異株を始めとする、ヒト、サル、マウス及びハムスター由来の上皮系細胞、間質系細胞及び造血系細胞が挙げられる。微生物由来の宿主の具体例としては、例えば、細菌、真菌及び
5 酵母が挙げられる。これらの宿主のうち、動物由来の宿主や酵母は、糖蛋白質としての形態の当該IL-18結合蛋白質の産生にとりわけ有用である。

上記のごとき給源を用いてこの発明のIL-18結合蛋白質を調製するには、体液又は細胞若しくは微生物の培養物を、必要に応じて、超音波などにより破碎した後、生理活性蛋白質を精製するための慣用の方法、
10 例えば、塩析、透析、濾過、濃縮、分別沈澱、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル濾過クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィー、等電点クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ゲル電気泳動、等電点電気泳動などを単独又は組合せて適用すればよい。

ところで、免疫系は、本来、有害な異物から生体を防御するためのものであるが、ときとして、その働きゆえに、却って、生体に有害な結果をもたらすことがある。哺乳類に、例えば、皮膚、腎臓、肝臓、心臓、骨髄などの臓器を移植すると、同種異系抗原に対する拒絶反応により、
20 T細胞が活性化され、リンパ球が増殖したり、炎症が生じることがある。症状の程度こそ違え、同様の現象は、例えば、アレルゲンのように、宿主が固有のものと見做さない異種異系抗原が侵入した場合にも観察される。また、自己免疫疾患においては、本来、固有のものと見做されるべき成分がアレルギー反応を惹起する。

25 この発明のIL-18結合蛋白質は、免疫系を活性化するIL-18に結合することによってその生理作用を抑制するIL-18抑制剤とし

て機能するので、ヒトを含む哺乳類に投与すると、上記のごとき免疫反応を抑制することが期待される。したがって、この発明でいう感受性疾患とは、拒絶反応及びアレルギー反応を含む免疫反応一般の亢進に起因する免疫疾患を含み、この発明のIL-18結合蛋白質が直接又は間接に作用して治療及び／又は予防し得るすべての疾患ということになる。

5 個々の感受性疾患としては、例えば、上記のごとき臓器移植に伴う拒絶反応に加えて、活動性慢性肝炎、萎縮性胃炎、自己免疫性溶血性貧血、バセドウ病、ベーチェット症候群、CRST症候群、寒冷凝集素性溶血性貧血、潰瘍性大腸炎、グッドパスチャー症候群、甲状腺機能亢進症、

10 慢性甲状腺炎、特発性血小板減少性紫斑病、若年性糖尿病、白血球減少症、多発性硬化症、重症筋無力症、発作性寒冷血色素尿症、悪性貧血、多発性結節性動脈炎、多発性筋炎、原発性胆汁性肝硬変、リウマチ熱、慢性関節リウマチ、橋本病、シェーグレン症候群、クローン病、交換性眼炎、進行性全身性硬化症、ウェジナー肉芽腫症、HIV感染症、喘息、

15 アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、花粉症及びハチ毒アレルギーを含む自己免疫疾患、炎症性疾患及びアレルギー性疾患一般が挙げられる。なお、この発明のIL-18結合蛋白質は、IFN- γ の過剰産生や過剰投与などに起因する敗血症ショックの治療・予防にも有効である。また、生体内において、IL-18がFasリガンドの産生を増強したり、

20 逆に、FasリガンドがIL-18の細胞からの分泌を誘導する場合があるので、この発明のIL-18結合蛋白質は、Fas及びFasリガンドが関与する免疫疾患一般の治療・予防にも有効である。さらに、この発明のIL-18結合蛋白質は、例えば、ウイルス性肝炎、アルコール性肝炎、中毒性肝炎、劇症肝炎、ウイルス性肝硬変、アルコール性肝硬変、中毒性肝硬変、胆汁性肝硬変、脂肪肝、肝臓腫瘍及び肝血管障害

25 などの肝疾患、胆管炎、胆嚢炎、原発性硬化性胆管炎、胆嚢腫瘍及び胆

管腫瘍などの胆嚢・胆道疾患、急性膵炎、慢性膵炎、膵機能不全、膵臓腫瘍及び膵嚢胞などの膵疾患の治療・予防、さらには、それらの疾患に伴う、例えば、食欲不振、倦怠感、疲労感、腹痛、背痛、黄疸、発熱、肝性脳症、腹水、出血傾向などの肝機能障害及び肝機能不全を緩和又は

5 解消する効果もある。その際、例えば、プロトポルフィリン、チオプリン、マロチラート、肝臓加水分解物、グリチルリチン、ジクロロ酢酸ジイソプロピルアミン、メチルメチオニンスルホニウムクロリド、グルタチオン、タウリン、シアニダノール、インターフェロン、ビタミンB₁、ビタミンB₂、ビタミンB₆、ビタミンB₁₂、チオクト酸、小紫胡湯、大

10 紫胡湯、紫胡桂枝湯、アスパラギン酸、甘草、メチオニン、チオプリン、グリチルリチンなどの肝細胞の機能を促進する薬剤を併用してもよい。加えて、この発明のIL-18結合蛋白質は、虚血、虚血性心筋症、脳虚血、脳底動脈片頭痛、脳底部異常血管網症、脳卒中、脳底部動脈瘤、動脈硬、血管内皮障害、糖尿病、腸管膜血管閉塞症及び上腸管膜動脈症

15 候群を含む循環器系疾患、パーキンソン病、脊髄筋肉萎縮症、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病、痴呆症、脳血管性痴呆症、エイズ痴呆症及び脳脊髄炎を含む神経系疾患の症状を緩和したり、予防する効果もある。斯くして、有効成分としてIL-18結合蛋白質を含有するこの発明の抗感受性疾患剤は、ヒトをはじめとする哺乳動物における上記の

20 ごとき感受性疾患を治療・予防するための抗自己免疫疾患剤、抗炎症剤、抗アレルギー剤、抗腫瘍剤、免疫抑制剤、増血剤、白血球増多剤、血小板増多剤、鎮痛剤、解熱剤、肝機能改善剤などとして多種多様な用途を有することとなる。剤型並びに感受性疾患の種類及び症状にもよるが、この発明の感受性疾患剤は、通常、液状、懸濁状、ペースト状又は固状

25 に調製され、この発明のIL-18結合蛋白質を0.00001乃至100% (w/w)、望ましくは、0.0001乃至20% (w/w) 含

んでなる。

この発明の抗感受性疾患剤は、 $IL-18$ 結合蛋白質単独の形態はもとより、 $IL-18$ 結合蛋白質とそれ以外の生理的に許容される、例えば、補助剤、増量剤、希釈剤、賦形剤、安定剤、防腐剤、免疫助成剤、
5 着色剤、着香剤、さらには、必要に応じて、他の生理活性物質の1又は複数との組成物としての形態をも包含する。安定剤としては、例えば、血清アルブミンやゼラチンなどの蛋白質、グルコース、シュクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、ソルビトール、マルチトール、マンニトール、ラクチトールなどの糖質及びクエン酸塩、磷酸塩若しくは炭酸塩を主体とする緩衝剤が、また、併用し得る他の生理活性物質として
10 は、例えば、アスピリン、フルフェナム酸、メフェナム酸、ジクロフェナック、インドメタシン、トルメチン、イブプロフェン、ケトプロフェン、フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、消炎酵素剤、金製剤、クロロキン製剤などの抗炎症剤、FK506、シクロフォスファミド、アザチオプリン、メトトレキサート、サイクロスポリンA、副腎皮質ホルモンなどの免疫抑制剤、さらには、 $IL-18$ 及び $IL-18$ 以外のサイトカインの受容体アンタゴニスト、例えば、インターロイキン-1 受容体蛋白質、インターロイキン-2 受容体蛋白質、インターロイキン-5 受容体蛋白質、インターロイキン-6 受容体蛋白質、インター
15 ロイキン-8 受容体蛋白質、インターロイキン-12 受容体蛋白質及び $IL-18$ 受容体蛋白質に対する、ヒト化抗体を含むそれぞれの抗体や、 $TNF-\alpha$ 受容体、 $TNF-\beta$ 受容体、インターロイキン-1 受容体、インターロイキン-5 受容体、インターロイキン-8 受容体及び $IL-18$ 受容体に対するそれぞれのアンタゴニスト、さらには、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-5、インター
20 ロイキン-8、インターロイキン-6、インターロイキン-8、インタ

ーロイキン-12及びインターロイキン-18に対する、ヒト化抗体を含むそれぞれの抗体が挙げられる。

さらに、この発明の抗感受性疾患剤は、投薬単位形態の薬剤をも包含し、その投薬単位形態の薬剤とは、IL-18結合蛋白質を、例えば、
5 1回当りの用量又はその整数倍（4倍まで）若しくはその約数（1/40まで）に相当する量を含んでなり、投薬に適する物理的に一体の剤型にある薬剤を意味する。このような投薬単位形態の薬剤としては、エキ
ス剤、エリキシル剤、カプセル剤、顆粒剤、丸剤、眼軟膏剤、懸濁剤、
乳剤、硬膏剤、坐剤、散剤、酒精剤、錠剤、シロップ剤、浸剤、煎剤、
10 注射剤、補輸液、チンキ剤、点眼剤、トローチ剤、軟膏剤、パップ剤、
芳香水剤、リニメント剤、リモナーデ剤、流エキス剤及びローション剤
が挙げられ、必要に応じて、点鼻剤、鼻噴霧剤、下気道吸入剤、眼科用
除法剤、口腔粘膜貼付剤及び浣腸剤としてもよい。この発明の抗感受性
疾患剤は経口的に投与しても非経口的に投与してもよく、いずれの場合
15 にも、感受性疾患の治療・予防に効果を発揮する。感受性疾患の種類や
症状にもよるが、具体的には、患者の症状や投与後の経過を観察しな
がら、成人当り約1 μ g/回乃至1g/回、通常、約10 μ g/回乃至1
00mg/回のIL-18結合蛋白質を1乃至4回/日又は1乃至5回
/週の用量で1日乃至半年に亘って経口投与するか、あるいは、皮内、
20 皮下、筋肉内又は静脈内に非経口投与すればよい。

ところで、この発明のIL-18結合蛋白質をコードするDNAは、
いわゆる、「遺伝子療法」にも有用である。すなわち、通常の遺伝子療
法においては、この発明のDNAを、例えば、レトロウイルス、アデノ
ウイルス、アデノ随伴ウイルスなどのウイルス由来のベクターに挿入す
25 るか、カチオニックポリマーや膜融合型リポソームなどのリポソームに
包埋し、この状態でIL-18結合蛋白質に感受性を有する疾患に罹患

した患者に直接注入するか、あるいは、患者からリンパ球を採取し、体外で導入した後、患者に自家移植するのである。斯くして、この発明のDNAは、例えば、自己免疫疾患やアレルギー性疾患などの免疫疾患や、肝機能障害及び神経系疾患を含む各種疾患の遺伝子療法、さらには、
5 臓器移植に伴う拒絶反応や過剰な免疫反応の抑制に著効を発揮することとなる。なお、これらの遺伝子療法を実施するための一般的手順は、例えば、島田隆、斉藤泉、小澤敏也編集、『実験医学別冊バイオマニュアルUPシリーズ 遺伝子治療の基礎技術』、1996年、羊土社発行にも詳述されている。

10 以下、実施例に沿ってこの発明の実施の形態を説明するが、斯界の技術水準においては、斯かる実施例は多種多様に改変可能である。斯かる技術水準に鑑み、この発明がこれらの実施例のみに限定されないことは言うまでもない。なお、この発明による蛋白質のIL-18結合能は、後記実施例においては、次の結合アッセイにより決定される阻害率を指標
15 として判定した。

すなわち、IL-18受容体をコードするDNAをチャイニーズハムスター卵巣由来のCHO-K1細胞(ATCC CRL-9618)に導入することによって、IL-18受容体が細胞表面に過剰に発現した効果細胞を調製する。別途、0.1% (w/v) アジ化ナトリウム、0.1% (v/v) ウシ血清アルブミン及び100mM N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N-2-エタンサルホン酸をそれぞれ含むRPMI-1640培地(pH7.2)を調製し、これをアッセイ用培地とする。次いで、試験区として、アッセイ用培地により適宜希釈した被検
20 試料を50 μ lとり、これにアッセイ用培地により適宜希釈した¹²⁵I標識IL-18を50 μ l加え、4℃で1時間振盪した後、アッセイ用培地に細胞密度1 \times 10⁷個/mlになるように浮遊させた効果細胞を50

5 μ l 加え、4℃でさらに1時間振盪する。その後、1.5 ml 容遠心管
 にジブチルフタレート／ジオクチルフタレート混液（容積比1：1）を
 200 μ l とり、その上部に効果細胞の浮遊液を重層し、4℃で5分間
 遠心分離し、吸引により上清を除去した後、細胞残渣を遠心管ごと切り
 5 取り、ガンマカウンター（商品名『ARC-300型』、アロカ株式会
 社製造）により放射能強度を測定する。併行して、 125 I 標識 IL-18
 とともに未標識 IL-18 を5 μ g 加える系（非特異的結合区）と、被
 験試料のみ省略する系（総結合区）をそれぞれ設け、これらを試験区と
 同様に処置する。そして、試験区、総結合区及び非特異的吸着区におい
 10 て得られた放射能強度を下記の式にそれぞれ代入して阻害率（%）を計
 算した。

$$\text{阻害率 (\%)} = \frac{\text{総結合区} - \text{試験区}}{\text{総結合区} - \text{非特異的結合区}} \times 100$$

15

実施例1：ヒト由来の IL-18 結合蛋白質

＜実施例1-1：IL-18 結合蛋白質の調製＞

人尿3lを膜濃縮した後、20 mM 燐酸緩衝液（pH 7.0）に対し
 て4℃で20時間透析した。透析内液を採取し、これをあらかじめ20
 20 mM 燐酸緩衝液（pH 7.0）により平衡化しておいたアフィニティー
 クロマトグラフィー用ゲル（商品名『ウイート・ジャーム・レクチン・
 セファロース6MB』、アマシャム・ファルマシア・バイオテク株式会
 社販売）230 ml のカラムに負荷して IL-18 結合蛋白質を吸着せ
 しめ、カラムを20 mM 燐酸緩衝液（pH 7.0）により洗浄した後、
 25 0.5 M N-アセチル-D-グルコサミンを含有する20 mM 燐酸緩
 衝液（pH 7.0）を通液しつつ、カラムからの溶出液を一定量ずつ採

取した。

各溶出画分の I L - 1 8 結合能を前記結合アッセイにより調べた後、
I L - 1 8 結合能が認められた画分を合一し、20 mM 燐酸緩衝液 (pH 7.0) に対して 4℃ で 16 時間透析した。透析内液を採取し、適宜
5 濃縮した後、あらかじめ 20 mM 燐酸緩衝液 (pH 7.0) により平衡
化しておいたイオン交換クロマトグラフィー用ゲル (商品名『T S K -
g e l D E A E - 5 P W』、東ソー株式会社製造) 54 ml のカラム
に負荷し、塩化ナトリウムの濃度が 100 分間で 0 M から 0.5 M まで
直線的に上昇する塩化ナトリウムの濃度勾配下にて 20 mM 燐酸緩衝液
10 (pH 7.0) を 2 ml / 分の流速で通液し、塩化ナトリウム濃度が 0.
2 M 付近で溶出した画分を採取した。

この画分を膜濃縮した後、あらかじめ 20 mM 燐酸一食塩緩衝液 (以下、「P B S」という。) により平衡化しておいたゲル濾過クロマトグラ
15 ラフィー用ゲル (商品名『H i L o a d S u p e r d e x 200』、
アマシャム・ファルマシア・バイオテク株式会社販売) 120 ml のカ
ラムに負荷し、カラムに P B S を通液しつつ、ゲル濾過クロマトグラフ
ィーにおける分子量が 70,000 ダルトン付近の画分を採取した。こ
の新たに得られた画分をあらかじめ 0.1% (v/v) トリフルオロ酢
酸水溶液により平衡化しておいた逆相クロマトグラフィー用ゲル (商品
20 名『V y d a c 214 T P 54』、サイプレス・インターナショナル
株式会社販売) 4 ml に負荷し、アセトニトリル濃度が 0% (v/v)
から 90% (v/v) まで直線的に上昇するアセトニトリルの濃度勾配
下にてカラムに 0.1% (v/v) トリフルオロ酢酸水溶液を通液しつ
つ、カラムからの溶出液を一定量ずつ分画した。各溶出画分の I L - 1
25 8 結合能を前記結合アッセイにより調べた後、I L - 1 8 結合能が確認
された、アセトニトリル濃度が 70% (v/v) 付近で溶出した画分を

採取し、濃縮したところ、ヒト由来の精製 IL-18 結合蛋白質が約 3 μ g 得られた。

その後、この精製 IL-18 結合蛋白質につき、ジチオトレイトール存在下の SDS-PAGE により分子量を測定したところ、約 40, 000 乃至 60, 000 ダルトンに IL-18 結合能を伴う蛋白質の単一バンドが観察された。また、大麦胚芽レクチンをリガンドとする『ウィート・ジャーム・レクチン・セファロース 6MB』に吸着することは、本例の IL-18 結合蛋白質が糖蛋白質であることを示している。

10 <実施例 1-2: N 末端アミノ酸配列>

実施例 1-1 の方法により得た精製 IL-18 結合蛋白質を遠心濃縮機により乾固した後、8M 尿素及び 10mM EDTA をそれぞれ含有する 0.1M トリス-塩酸緩衝液 (pH 8.1) に溶解し、窒素気流下、50℃ で 30 分間処理した。次いで、ジチオトレイトールを適量加え、窒素気流下、50℃ で 2 時間還元した後、反応物にモノヨード酢酸を適量加え、室温下、暗所にて 30 分間反応させて IL-18 結合蛋白質をアルキル化した。

得られたアルキル化物にジチオトレイトール存在下の SDS-PAGE を適用することによって分子量約 40, 000 乃至 60, 000 ダルトンに相当する蛋白質を分離し、以後、常法にしたがって、分離した IL-18 結合蛋白質のバンドを PVDF 膜へ転写後、その膜をプロテインシーケンサー (商品名『473A 型』、アプライド・バイオシステムズ社製造) を用いるアミノ酸分析に供して N 末端アミノ酸配列を決定した。その結果、実施例 1-1 の方法により得たこの発明の IL-18 結合蛋白質は、N 末端アミノ酸配列として、配列表における配列番号 3 に示すアミノ酸配列を含有していることが判明した (なお、「Xaa」は

未同定のアミノ酸であることを意味している)。

＜実施例 1-3：ペプチドマッピング＞

5 ウルフ・ヘルマンら『アナリティカル・バイオケミストリー』、第2
24巻、451乃至455頁(1995年)に記載された『イン・ゲル
・ダイジェスション法』により、実施例1-2の方法により還元アルキ
ル化したIL-18結合蛋白質のトリプシン消化後及びトリプシン/ペ
プシン消化後のペプチドマップをそれぞれ作成するとともに、トリプシ
ン消化により得られたペプチド断片1乃至8及びトリプシン/ペプシン
10 消化により得られたペプチド断片9乃至20のアミノ酸配列をそれぞれ
決定した。その結果、ペプチド断片1乃至20は、それぞれ、配列表に
おける配列番号4乃至23に示すアミノ酸配列を有していることが判明
した(なお、「Xaa」は未同定のアミノ酸であることを意味してい
る)。このとき得られたペプチドマップを第1図に示す。

15

＜実施例 1-4：IL-18抑制作用＞

免疫担当細胞及びIL-18として、それぞれ、健常者のリンパ球及
び組換え型ヒトIL-18を、また、IFN- γ の標準品として米国国
立衛生研究所から入手した標準ヒトIFN- γ (G802-901-5
20 30)をそれぞれ用いた以外は、後記実施例3-3におけると同様に試
験した。

その結果、本例のIL-18結合蛋白質が共存すると、ヒトIL-1
8によるIFN- γ 産生の誘導が有意に抑制された。このことは、本例
のIL-18結合蛋白質がIL-18の生理作用を抑制することを示し
25 ている。

実施例 2 : ヒト由来の IL-18 結合蛋白質をコードする DNA

＜実施例 2-1 : ヒト由来の IL-18 結合蛋白質をコードする DNA

A＞

＜実施例 2-1 (a) : ヒト由来の IL-18 結合蛋白質をコードする

5 DNA の塩基配列＞

ポリ (A) 付加ヒト肝臓 RNA (クローンテック製) 10 ng に 10
× PCR 緩衝液 2 μ l、25 mM 塩化マグネシウム 2 μ l、0.1 M ジ
チオトレイトール 2 μ l、25 mM dNTP ミックス 1 μ l、200
単位/ μ l 逆転写酵素 (商品名『スーパースクリプト II』、ライフテ
10 ック・オリエンタル株式会社製造) 1 μ l 及び 2.5 μ M ランダムヘキ
サマー 1 μ l をそれぞれ加え、滅菌蒸留水で全量を 20 μ l とした。こ
の混合物を 0.5 ml 容反応管にとり、42℃で 50 分間、70℃で 1
5 分間、この順序で、それぞれインキュベートすることによって逆転写
酵素反応させ、第一ストランド cDNA を含む反応物を得た。

15 この反応物に体積比で 2.5 倍量のエタノールと 3 M 酢酸ナトリウム
2 μ l をそれぞれ加え、-20℃で 2 時間静置して cDNA を沈澱させ
た。沈澱を採取し、75% (v/v) 水性エタノールにより洗浄した後、
滅菌蒸留水に溶解し、2.5 単位/ μ l DNA ポリメラーゼ (商品名
『クロード Pfu ポリメラーゼ』、ストラタジーン製造) 0.5 μ l、
20 専用緩衝液 10 μ l 及び 25 mM dNTP ミックス 1 μ l をそれぞれ
加え、さらに、センスプライマーとして、配列表における配列番号 3 に
示すアミノ酸配列に基づき化学合成した 5'-ACNCCNGTNWS
NCA-3' で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドと、アンチセ
ンスプライマーとして、配列表における配列番号 8 に示すアミノ酸配列
25 に基づき化学合成した 5'-TGNGCNARNACNACRTG-3'
' で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドをそれぞれ 10 μ M 加え、

滅菌蒸留水で全量を100 μ lとした。この混合物を94℃、40℃及び72℃で、この順序で、それぞれ1分間インキュベートするサイクルを40回繰返してPCR反応させた。

次いで、PCR産物の一部をとり、常法にしたがって、1% (w/v) アガロースゲル上で電気泳動することによってDNA断片を分画し、
5 ナイロン膜に転写し、0.4N水酸化ナトリウムにより固定し、2×SSCにより洗浄し、風乾した後、6×SSPE、5×デンハルト液、0.5% (w/v) SDS及び100 μ g/ml変性サケ精子DNAをそれぞれ含有するプレハイブリダイゼーション液に浸漬し、65℃で3時間
10 インキュベートした。別途、常法にしたがって、配列表における配列番号3に示すアミノ酸配列に基づき5'-GGRCANGGRTCTT-3'で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドを化学合成し、これを[γ -³²P] ATP及びT4ポリヌクレオチドキナーゼにより同位体標識することによってプローブを調製した。前記ナイロン膜を浸漬した
15 プレハイブリダイゼーション液にこのプローブを1 pmol加え、ナイロン膜を40℃でさらに20時間インキュベートしてハイブリダイズさせた。その後、6×SSCによりナイロン膜を洗浄し、常法にしたがってオートラジオグラフィした。その結果、プローブの特異的なハイブリダイゼーションを示すシグナルが認められ、上記PCR産物が目的とするDNA断片を含むことが確認された。
20

その後、残りのPCR産物にプラスミドベクター（商品名『pCR-Script Cam SK (+)』、ストラタジーン社製造）を1 ng加え、DNAライゲーション・キット（商品名『DNAライゲーション・キット/バージョン2』、宝酒造株式会社製造）を用いてプラスミドベクター内にPCR産物であるDNA断片を挿入した。反応物の一部
25 をとり、大腸菌株（商品名『XL1-Blue MRF^r Kan^r』、ス

トラタジーン社製造)を形質転換した後、形質転換体をクロラムフェニ
コール $30\mu\text{g}/\text{ml}$ を含むLB培地(pH7.5)に接種し、 37°C
で18時間培養し、培養物から菌体を採取し、これを常法にしたがって
処理してプラスミドDNAを採取した。ジデオキシ法により調べたところ、このプラスミドDNAは、PCR産物のDNA断片の塩基配列として、配列表における配列番号34に示す塩基配列を含んでいた。その塩基配列がコードする、配列表における配列番号34に併記したアミノ酸配列と、配列表における配列番号3乃至23に示す、実施例1-2乃至1-3で決定した部分アミノ酸配列とを照合したところ、これらの部分アミノ酸配列は、いずれもその全部又は一部が配列番号34に併記したアミノ酸配列に含まれていた。このことは、配列表における配列番号34に示す塩基配列が、ヒト由来の当該IL-18結合蛋白質の少なくとも一部分をコードするものであることを示唆している。

15 <実施例2-1(b):ヒト由来のIL-18結合蛋白質をコードする
DNAの塩基配列>

ポリ(A)付加ヒト肝臓RNA(クローンテック製) 10ng を、市販の5'RACEキット(商品名『5'RACEシステム、バージョン2.0』、ギブコ・ビー・アール・エル製)を用いて、PCRの一変法である5'RACEに供した。すなわち、先ず、上記RNAを、配列表における配列番号34に示す塩基配列に基づき化学合成した5'-GGTCACTTCCAATGCTGGACA-3'で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いる逆転写酵素反応に供し、引き続いてターミナル・デオキシヌクレオチジル・トランスフェラーゼを作用させて、生成した第一ストランドcDNAの5'末端にCテイルを付加した。この第一ストランドcDNAを、次に、センスプライマー

として、上記キットに添付の5'-GGCCACGCGTCGACTAGTACGGG| |GGG| |GGG| |G-3'で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドと、アンチセンスプライマーとして、配列表における配列番号34に示す塩基配列に基づき化学合成した5'-GTCC

5 TTTGTGCTTCTA ACTGA-3'を用いてPCR反応させた。以上の5' RACEで得られた反応産物を一部とり、常法にしたがい1% (w/v) アガロースゲル電気泳動に供したところ、特定のDNA断片の増幅が確認された。実施例2-1(a)におけると同様にして塩基配列を調べたところ、このDNA断片は、配列表における配列番号

10 35に示す塩基配列を含有していた。この塩基配列における第160乃至216番目の塩基からなる配列は、実施例2-1(a)で決定した、配列表の配列番号34に示す塩基配列における第1乃至57番目の塩基からなる配列と完全に一致した。このことは、配列表における配列番号35に示す塩基配列が、配列番号34に示す、ヒト由来の当該IL-1

15 8結合蛋白質の少なくとも一部をコードする塩基配列とオーバーラップし、かつ、その5'末端側上流域に相当する塩基配列を含んでいることを示唆している。

20 <実施例2-1(c): ヒト由来のIL-18結合蛋白質をコードするDNAの塩基配列>

ポリ(A)付加ヒト肝臓RNA(クローンテック製)10ngを、斎藤隆監訳、『PCR実験マニュアル』、HBJ出版発行(1991年)、25乃至33に記載の方法にしたがって、PCRの一変法である3' RACEに供した。すなわち、先ず、上記RNAを、5'-GACTCG

25 AGTCGACATCGA(T)₁₇-3'で表される塩基配列のヌクレオチドをプライマーとして用いる逆転写酵素反応に供し、得られた第一

ストランド cDNA を、実施例 2-1 (a) で決定した、配列表における配列番号 34 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-TTCTCCTGTGTGCTCGTGG-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをセンスプライマーとして、5'-GACTCGAGTCGACAATCG-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをアンチセンスプライマーとして用いて PCR 反応させた。以上の 3' RACE で得られた反応産物を一部とり、常法にしたがい 1% (w/v) アガロースゲル電気泳動に供したところ、特定の DNA 断片の増幅が確認された。実施例 2-1 (a) におけると同様にして塩基配列を調べたところ、
10 この DNA 断片は、配列表における配列番号 36 に示す塩基配列を含有していた。この塩基配列における第 1 乃至 60 番目の塩基からなる配列は、実施例 2-1 (a) で決定した、配列表の配列番号 34 に示す塩基配列における第 352 乃至 411 番目の塩基からなる配列と完全に一致した。このことは、配列表における配列番号 36 に示す塩基配列が、配
15 列番号 34 に示す、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質の少なくとも一部をコードする塩基配列とオーバーラップし、かつ、その 3' 末端側下流域に相当する塩基配列を含んでいることを示唆している。

以上に示したように、実施例 2-1 (a) 乃至 2-1 (c) で、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質をコードする、互いにオーバーラップ
20 する塩基配列として、配列表における配列番号 34 乃至 36 に示す塩基配列を決定した。互いにオーバーラップする部分の塩基配列を勘案すると、これらの塩基配列は、配列表における配列番号 37 に示す一連の塩基配列に由来する部分配列と考えられた。

25 <実施例 2-1 (d) : ヒト由来の IL-18 結合蛋白質をコードする DNA の塩基配列>

実施例 2-1 (a) の方法にしたがって、ポリ (A) 付加ヒト肝臓 R
NA を逆転写酵素反応させた後、センスプライマーとして、配列表にお
ける配列番号 37 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-TG T G
T G A C T G G A G A A G A G G A C-3' で表される塩基配列のオリ
5 ゴヌクレオチドを、また、アンチセンスプライマーとして、配列表にお
ける配列番号 37 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-T A C A
G G C A G T C A G G G A C T G T T C A C T C C A G-3' で表され
る塩基配列のオリゴヌクレオチドをそれぞれ用いたこと以外は、実施例
2-1 (b) におけると同様にして PCR 反応させた。この PCR 産物
10 の一部をとり、常法にしたがい 1% (w/v) アガロースゲル電気泳動
に供したところ、特定の DNA 断片の増幅が確認された。引き続き、実
施例 2-1 (a) におけると同様にして塩基配列を調べたところ、この
DNA 断片は、配列表における配列番号 37 に示す塩基配列を有してい
た。これにより、実施例 2-1 (a) 乃至 2-1 (c) で決定した、配
15 列表における配列番号 34 乃至 36 に示す塩基配列が、配列番号 37 に
示す一連の塩基配列の、それぞれ部分配列であることが裏付けられた。

一方、配列表における配列番号 37 に示す塩基配列によりコードされ
る、そこに併記したアミノ酸配列と、配列表における配列番号 4 乃至 2
3 に示す、実施例 1-3 で決定した部分アミノ酸配列とを照合したとこ
20 ろ、これらの部分アミノ酸配列は、すべて配列番号 37 に併記したアミ
ノ酸配列における第 1 乃至 164 番目のアミノ酸からなる部分に含まれ
ていた。また、配列表における配列番号 3 に示す、実施例 1-2 で決定
した N 末端アミノ酸配列は、配列表における配列番号 37 に併記したア
ミノ酸配列における第 1 乃至 22 番目のアミノ酸からなる配列とよく一
25 致した。したがって、以上のことは、配列表の配列番号 37 に示す塩基
配列における第 160 乃至 651 番目の塩基からなる配列がヒト由来の

当該 IL-18 結合蛋白質をコードし得るものであり、そして、当該 IL-18 結合蛋白質が、全体としては、斯かる塩基配列に併記した第 1 乃至 164 番目のアミノ酸からなる配列を有する場合があることを示唆している。なお、以上のごとく示唆された、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質のアミノ酸配列とそれをコードする塩基配列は、配列表における配列番号 1 及び 32 にそれぞれ別記している。

＜実施例 2-2：形質転換体によるヒト由来の IL-18 結合蛋白質の産生＞

10 ＜実施例 2-2 (a)：組換え DNA の調製＞

0.5 ml 反応管に、実施例 2-1 (d) の方法で得た、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質をコードし得る DNA を 1 ng とり、これに、10 μ l の 10 \times PCR 緩衝液、1 μ l の 25 mM dNTP ミックス及び 2.5 単位/ μ l DNA ポリメラーゼ（商品名『クロード Pfu ユポリメラーゼ』、ストラタジーン製造）を加え、センスプライマーとして、配列表における配列番号 32 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-CTCGAGGCCACCATGACCATGAGACACAAC-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドを、また、アンチセンスプライマーとして、配列表における配列番号 32 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-GCGGCCGCTCATTAGTGATGGTGATGGTGATGACCCCTGCTGCTGTGGACT-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをそれぞれ適量加えて、滅菌蒸留水で全量を 100 μ l とした。この混合物を、94 $^{\circ}$ C で 1 分間、42 $^{\circ}$ C で 2 分間及び 72 $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートするサイクルを 3 回繰返した後、さらに 94 $^{\circ}$ C で 1 分間、60 $^{\circ}$ C で 2 分間及び 72 $^{\circ}$ C で 3 分間インキュベートするサイクルを 35 回繰返して PCR 反応させた。

実施例 2-1 (a) におけると同様にして PCR 産物中に目的とする DNA 断片が存在することを確認する一方、実施例 2-1 (a) におけると同様にして当該 DNA 断片を挿入してなるプラスミドベクターを採取した。引き続き実施例 2-1 (a) におけると同様にして塩基配列を調べ、このプラスミド DNA が、配列表における配列番号 32 に示す塩基配列を含むことを確認した。

常法にしたがって、上記で得たプラスミド DNA に制限酵素 Xho I 及び Not I を作用させて得た DNA 断片 100 ng に、エス・ミズシマら、『ニュークレイック・アシッド・リサーチ』、第 17 号、第 18 巻、5, 332 頁 (1990 年) に記載された方法に準じて調製し、予め制限酵素 Xho I 及び Not I で切断しておいたプラスミドベクター『pEF-BOS』を 10 ng 加え、DNA ライゲーション・キット (商品名『DNA ライゲーション・キット/バージョン 2』、宝酒造株式会社製造) を用いてプラスミドベクター内に DNA 断片を挿入した。

15 実施例 2-1 (a) におけると同様にして、ライゲーション反応産物で、大腸菌株を形質転換し、得られた形質転換体から組換え DNA を採取し、この組換え DNA を『pEFH18BPH6』と命名した。常法にしたがって分析したところ、第 3 図に示すように、組換え DNA『pEFH18BPH6』においては、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質をコードし得る、配列表における配列番号 32 に示す塩基配列を含有する cDNA『EFH18BPH6 cDNA』が、延長因子 1 プロモーター『EF1 α P』の下流に連結されていた。

20

25 <実施例 2-2 (b) : 形質転換体によるヒト由来の IL-18 結合蛋白質の産生>

実施例 2-2 (a) で得た、組換え DNA『pEFH18BPH6』

を含む形質転換大腸菌株を、 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ アンピシリンを含むLB培地（ $\text{pH}7.2$ ）に接種し、 37°C で18時間通気攪拌培養した後、培養物から常法にしたがいプラスミドDNAを採取して、組換えDNA『pEFH18BPH6』を得た。この組換えDNAを $20\mu\text{g}$ とり、
5 予め常法にしたがい増殖させておいた、 1×10^7 個のアフリカミドリザルの腎臓由来の繊維芽細胞株COS-1細胞（ATCC CRL-1650）に、エレクトロポレーション法により導入して、この発明のDNAが導入された形質転換体を得た。

平底培養瓶に培地（商品名『ASF104』、味の素製）をとり、これに、上記で得た形質転換体を 1×10^5 個/ ml の割合で接種し、5% CO_2 インキュベーター中、 37°C で3日間培養した。培養物から培養上清を採取し、アフィニティークロマトグラフィー用ゲル（商品名『Ni-NTA』、キアジェン製）のカラムに負荷した。このカラムに、 20mM イミダゾールを含むPBSを通液して非吸着画分を除去した後、
15 50mM イミダゾールを含むPBSを通液し、カラムからの溶出液を一定量ずつ分画採取した。それぞれの画分におけるIL-18結合蛋白質の有無を前記結合アッセイにより調べ、当該蛋白質の存在の確認された画分を採取し、合一して、 1×10^7 個の当該形質転換体より、約 2ml の精製IL-18結合蛋白質の水溶液を得た。この水溶液の蛋白質含量は約 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。この水溶液を、実施例1-2の方法にしたがって処理し、N末端アミノ酸配列を分析したところ、配列表における配列番号3と同一のアミノ酸配列が得られた。なお、対照として、組換えDNA『pEFH18BPH6』に代えてプラスミドベクター『pEF-BOS』を用いて、本実施例と同様に処置したところ、IL-1
25 8結合蛋白質の存在は確認されなかった。以上の結果は、ヒト由来の当該IL-18結合蛋白質が配列表における配列番号1に示すアミノ酸配

列を有する場合があります、そして、当該蛋白質が、配列番号32に示す塩基配列によりコードされ得ることを裏付けている。

実施例3：マウス由来のIL-18結合蛋白質

5 <実施例3-1：IL-18結合蛋白質の調製>

コリネバクテリウム・パルバム(ATCC11827)を60℃で1時間加熱して得た死菌体を8週齢の雌CD-1マウス600匹の腹腔内に1mg/匹の割合で注射投与し、通常の方法で7日間飼育した後、静脈内に大腸菌由来の精製リボ多糖を1μg/匹の割合で注射投与した。

- 10 2時間後、マウスの心臓から血液を採取し、これを常法にしたがって処理して血清200mlを得た。その後、この血清を実施例1-1の方法により精製したところ、マウス由来の精製IL-18結合蛋白質が約3μg得られた。

- その後、この精製IL-18結合蛋白質につき、ジチオトレイトール存在下のSDS-PAGEにより分子量を測定したところ、約40,000乃至60,000ダルトンにIL-18結合能を伴う蛋白質の単一バンドが観察された。なお、大麦胚芽レクチンをリガンドとする『ウィート・ジャーム・レクチン・セファロース6MB』に吸着することは、本例のIL-18結合蛋白質が糖蛋白質であることを示している。

20

<実施例3-2：ペプチドマッピング>

- 実施例3-1の方法により得た精製IL-18結合蛋白質につき、実施例1-3におけると同様にしてペプチドマップを作成するとともに、トリプシン消化により得られたペプチド断片1乃至5及びトリプシン/
- 25 ペプシン消化により得られたペプチド断片6乃至8のアミノ酸配列を調べたところ、ペプチド断片1乃至8は、それぞれ、配列表における配列

番号24乃至31に示すアミノ酸配列を有していた（なお、「X a a」は未同定のアミノ酸であることを意味している）。このとき得られたペプチドマップを第2図に示す。

5 <実施例3-3：IL-18抑制作用>

14週齢の雌C3H/HeJマウスから脾臓を摘出し、分散し、付着細胞を除去した後、脾細胞を10%（v/v）ウシ胎児血清を補足したRPMI-1640培地（pH7.4）に細胞密度 1×10^7 個/mlになるように浮遊させ、免疫担当細胞とした。次いで、脾細胞及び2.5
10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ コンカナバリンAをマイクロプレートにそれぞれ0.15ml/ウェル及び0.05mlずつ分注し、組換え型マウスIL-18を25ng/mlと、IL-18に対して過剰量の、実施例3-1の方法により得た精製IL-18結合蛋白質とを含む新鮮な同一培地を0.05ml/ウェル加えた後、5%CO₂インキュベーター中、37℃で24
15 時間培養した。培養後、各ウェルから培養上清を0.1mlずつ採取し、産生したIFN- γ を通常の酵素免疫法により測定した。併行して、IL-18結合蛋白質及びマウスIL-18のいずれかを省略した系をそれぞれ設け、これを上記と同様に処置して対照とした。なお、IFN- γ の標準品には、米国国立衛生研究所から入手した標準マウスIFN- γ （Gg02-901-533）を用い、国際単位（IU）に換算して
20 表示した。

その結果、IL-18結合蛋白質を省略した対照におけるIFN- γ の産生量が約600IU/mlであり、また、マウスIL-18を省略した対照におけるIFN- γ の産生量が0IU/mlであったのに対して、IL-18結合蛋白質を加えた系においては、僅かに60IU/ml
25 前後であった。このことは、本例のIL-18結合蛋白質がIL-1

8の生理作用を抑制することを示している。

実施例4：マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードするDNA

5 <実施例4-1：マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードするDNA>

<実施例4-1(a)：マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードするDNAの塩基配列>

10 コリネバクテリウム・パルバム(ATCC11827)を60℃で1時間加熱し、得られた死菌体を8週齢の雌CD-1マウスの腹腔内に1mg/匹の割合で注射投与した。7日間飼育した後、静脈内に大腸菌由来の精製リポ多糖を1μg/匹の割合で注射投与し、2時間後、頸椎を脱臼させて屠殺し、肝臓を摘出した。摘出した肝臓を湿重で3gとり、これを6Mグアニジンイソチオシアナート、10mMクエン酸ナトリウム及び0.5%(w/v)SDSからなる混液(pH7.0)20ml

15 に浸漬し、ホモゲナイザーにより破碎した。次いで、35ml容遠心管に5.7M塩化セシウムを含有する0.1MEDTA(pH7.5)を25mlずつ注入し、その上部に細胞破碎物を10mlずつ重層し、この状態で20℃、25,000rpmで20時間超遠心分離した。その後、RNA画分を採取し、これを15ml容遠心管にとり、等量のクロロホルム/イソブタノール混液(体積比4:1)を加え、5分間振盪し、4℃、10,000rpmでさらに10分間遠心分離した後、水層部を採取した。採取した水層に2.5倍容のエタノールを加え、-20℃で2時間静置することによって全RNAを沈澱させた後、沈澱を採取し、75%(v/v)水性エタノールで洗浄し、滅菌蒸留水0.5ml

25 に溶解した。

以後、この全RNAを実施例2-1(a)におけると同様にして逆転

写酵素反応させ、得られた第一ストランド cDNA を含む反応物を、センスプライマーとして、配列表における配列番号 27 に示すアミノ酸配列に基づき化学合成した 5' - G C N G T N C C N A C N A A - 3' で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドを、また、アンチセンスプライマーとして、配列表における配列番号 30 に示すアミノ酸配列に基づき化学合成した 5' - G T Y T T N A R N C C R T C - 3' で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドをそれぞれ用いた以外は実施例 2-1 (a) におけると同様にして P C R 反応させた。その後、プローブの調製に、配列表における配列番号 24 に示すアミノ酸配列に基づき化学合成した 5' - S W N G T R T G N C C Y T C Y T T - 3' で表わされる塩基配列のオリゴヌクレオチドを用いた以外は、実施例 2 におけると同様にして P C R 産物中に目的とする D N A 断片が存在することを確認する一方、実施例 2-1 (a) におけると同様にして当該 D N A 断片の塩基配列を調べたところ、当該 D N A 断片は配列表における配列番号 38 に示す塩基配列を有していた。配列表における配列番号 38 に併記したアミノ酸配列と、配列表における配列番号 24 乃至 31 に示す、実施例 3-2 で決定した部分アミノ酸配列とを照合したところ、これらの部分アミノ酸配列は、いずれもその全部又は一部が配列番号 38 に併記したアミノ酸配列に含まれていた。このことは、配列表における配列番号 38 に示す塩基配列が、マウス由来の当該 I L - 1 8 結合蛋白質の少なくとも一部分をコードするものであることを示唆している。

＜実施例 4-1 (b) : マウス由来の I L - 1 8 結合蛋白質をコードする D N A の塩基配列＞

25 実施例 4-1 (a) の方法にしたがって、コリネバクテリウム・パルバムの死菌体とリポ多糖で処理した雌性 C D - 1 マウスより採取した全

RNA 1 μ g を、市販の 5' RACE キット（商品名『5' RACE システム、バージョン 2.0』、ギブコ・ビー・アール・エル製）を用いて、PCR の一変法である 5' RACE に供した。すなわち、先ず、上記全 RNA を、配列表における配列番号 38 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-TG CAGGCAGTACAGGACAAGG-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをプライマーとして用いる逆転写酵素反応に供し、引き続いてターミナル・デオキシヌクレオチジル・トランスフェラーゼを作用させて、生成した第一ストランド cDNA の 5' 末端に C テイルを付加した。この第一ストランド cDNA を、次に、センスプライマーとして、上記キットに添付の 5'-GGCCACGCGTCGACTAGTACGGG||GGG||GGG||G-3' で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドと、アンチセンスプライマーとして、配列表における配列番号 38 に示す塩基配列に基づき化学合成した 5'-GTGCTGGGTACTGCTTAGTTG-3' とを用いて PCR 反応させた。以上の 5' RACE で得られた反応産物を一部とり、常法にしたがい 1% (w/v) アガロースゲル電気泳動に供したところ、特定の DNA 断片の増幅が確認された。実施例 2-1 (a) におけると同様にして塩基配列を調べたところ、この DNA 断片は、配列表における配列番号 39 に示す塩基配列を含有していた。この塩基配列における第 307 乃至 336 番目の塩基からなる配列は、実施例 4-1 (a) で決定した、配列表の配列番号 38 に示す塩基配列における第 1 乃至 30 番目の塩基からなる配列と完全に一致した。このことは、配列表における配列番号 39 に示す塩基配列が、配列番号 38 に示す、マウス由来の当該 IL-18 結合蛋白質の少なくとも一部をコードする塩基配列とオーバーラップし、かつ、その 5' 末端側上流域に相当する塩基配列を含んでいることを示唆している。

＜実施例４－１（ｃ）：マウス由来のⅠＬ－１８結合蛋白質をコードするDNAの塩基配列＞

実施例４－１（ａ）の方法にしたがって、コリネバクテリウム・パル
5 バムの死菌体とリポ多糖で処理した雌性CD-1マウスより採取した全
RNA 1 μ gを、斎藤隆監訳、『PCR実験マニュアル』、HBJ出版
発行（1991年）、25乃至33に記載の方法にしたがって、PCR
の一変法である3' RACEに供した。すなわち、先ず、上記RNAを、
5'-GACTCGAGTCGACATCGA(T)₁₇-3'で表され
10 る塩基配列のヌクレオチドをプライマーとして用いる逆転写酵素反応に
供し、得られた第一ストランドcDNAを、実施例４－１（ａ）で決定
した、配列表における配列番号38に示す塩基配列に基づき化学合成し
た5'-GATCCTGGACAAGTGGCC-3'で表される塩基
配列のオリゴヌクレオチドをセンスプライマーとして、5'-GACT
15 CGAGTCGACATCG-3'で表される塩基配列のオリゴヌクレ
オチドをアンチセンスプライマーとして用いてPCR反応させた。以上
の3' RACEで得られた反応産物を一部とり、常法にしたがい1%
(w/v)アガロースゲル電気泳動に供したところ、特異的なDNA断
片の増幅が確認された。実施例２－１（ａ）におけると同様にして塩基
20 配列を調べたところ、このDNA断片は、配列表における配列番号40
に示す塩基配列を含有していた。この塩基配列における第1乃至63番
目の塩基からなる配列は、実施例４－１（ａ）で決定した、配列表の配
列番号38に示す塩基配列における第289乃至351番目の塩基から
なる配列と完全に一致した。このことは、配列表における配列番号40
25 に示す塩基配列が、配列番号38に示す、マウス由来の当該ⅠＬ－１８
結合蛋白質の少なくとも一部をコードする塩基配列とオーバーラップし、

かつ、その3'末端側下流域に相当する塩基配列を含んでいることを示唆している。

以上に示したように、実施例4-1(a)乃至4-1(c)で、マウス由来の当該IL-18結合蛋白質をコードする、互いにオーバーラップする塩基配列として、配列表における配列番号38乃至40に示す塩基配列を決定した。互いにオーバーラップする部分の塩基配列を勘案すると、これらの塩基配列は、配列表における配列番号41に示す一連の塩基配列に由来する部分配列と考えられた。

10 <実施例4-1(d)：マウス由来のIL-18結合蛋白質をコードするDNAの塩基配列>

実施例4-1(a)の方法にしたがって、コリネバクテリウム・パルバムの死菌体とリポ多糖で処理した雌性CD-1マウスより採取した全RNAを逆転写酵素反応させた後、センスプライマーとして、配列表における配列番号41に示す塩基配列に基づき化学合成した5'-CTGAGCCTTAGAGCTCCAAG-3'で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドを、また、アンチセンスプライマーとして、配列表における配列番号41に示す塩基配列に基づき化学合成した5'-GTGAAGCTTGAGTTTGAGGTTTC-3'で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをそれぞれ用いたこと以外は、実施例4-1(c)におけると同様にしてPCR反応させた。このPCR産物の一部をとり、常法にしたがい1%(w/v)アガロースゲル電気泳動に供したところ、特異的なDNA断片の増幅が確認された。引き続き、実施例2-1(a)におけると同様にして塩基配列を調べたところ、このDNA断片は、配列表における配列番号41に示す塩基配列を有していた。これにより、実施例4-1(a)乃至4-1(c)で決定した、配列表における配列

番号 38 乃至 40 に示す塩基配列が、配列番号 41 に示す一連の塩基配列の、それぞれ部分配列であることが裏付けられた。

一方、配列表における配列番号 41 に示す塩基配列によりコードされる、そこに併記したアミノ酸配列と、配列表における配列番号 24 乃至 31 に示す、実施例 3-2 で決定した部分アミノ酸配列とを照合したところ、これらの部分アミノ酸配列は、すべて配列番号 41 に併記したアミノ酸配列における第 1 乃至 165 番目のアミノ酸からなる部分に含まれていた。また、配列表における配列番号 1 に示す、ヒト由来の当該 IL-18 結合蛋白質のアミノ酸配列は、配列表における配列番号 41 に併記したアミノ酸配列における第 1 乃至 165 番目のアミノ酸からなる配列と約 61% の相同性を示した。したがって、以上のことは、配列表の配列番号 41 に示す塩基配列における第 235 乃至 729 番目の塩基からなる配列がマウス由来の当該 IL-18 結合蛋白質をコードし得るものであり、そして、当該 IL-18 結合蛋白質が、全体としては、斯かる塩基配列に併記した第 1 乃至 165 番目のアミノ酸からなる配列を有する場合があることを示唆している。なお、以上のごとく示唆された、マウス由来の当該 IL-18 結合蛋白質のアミノ酸配列とそれをコードする塩基配列は、配列表における配列番号 2 及び 33 にそれぞれ別記している。

20

＜実施例 4-2：形質転換体によるマウス由来の IL-18 結合蛋白質の産生＞

＜実施例 4-2 (a)：組換え DNA の調製＞

0.5 ml 反応管に、実施例 4-1 (d) の方法で得た、マウス由来の当該 IL-18 結合蛋白質をコードし得る DNA を 1 ng とり、これを、配列表における配列番号 33 に示す塩基配列に基づき化学合成した

25

5´-CTCGACGCCACCATGACCATGAGACACTG
C-3´で表される塩基配列のオリゴヌクレオチドをセンスプライマー
として、また、配列表における配列番号33に示す塩基配列に基づき化
学合成した5´-GCGGCCGCTCATTAGTGATGGTGA
5 TGGTGATGTGCAACCCCTGGGCTGC-3´で表さ
れる塩基配列のオリゴヌクレオチドをアンチセンスプライマーとして用
いたこと以外は実施例2-2(a)におけると同様に処置してPCR反
応させた。実施例4-1(a)におけると同様にしてPCR産物中に目
的とするDNA断片が存在することを確認する一方、当該DNA断片を
10 挿入してなるプラスミドベクターを採取した。引き続き実施例2-1
(a)におけると同様にして塩基配列を調べ、このプラスミドDNAが、
配列表における配列番号33に示す塩基配列を含むことを確認した。

上記で得たプラスミドDNAを、実施例2-2(a)におけると同様
にしてプラスミドベクター『pEF-BOS』に挿入して組換えDNA
15 とし、得られた組換えDNAを『pEFM18BPH-MK2』と命名
した。常法にしたがって分析したところ、第4図に示すように、組換え
DNA『pEFM18BPH-MK2』においては、マウス由来の当該
IL-18結合蛋白質をコードし得る、配列表における配列番号33に
示す塩基配列を含有するcDNA『EFM18BPH-MK2 cDN
20 A』が、延長因子1プロモーター『EF1 α P』の下流に連結されてい
た。

＜実施例4-2(b)：形質転換体によるマウス由来のIL-18結合
蛋白質の産生＞

25 実施例4-2(a)で得た組換えDNA『pEFM18BPH-MK
2』を含む形質転換大腸菌株の培養物より、常法にしたがいプラスミド

DNAを採取して、組換えDNA『pEFM18BPH-MK2』を得た。この組換えDNAを20 μ gとり、実施例2-2(b)におけると同様にしてCOS-1細胞(ATCC CRL-1650)に導入して、この発明のDNAが導入された形質転換体を得た。

- 5 引き続き実施例2-2(b)におけると同様にして、上記で得た形質転換体を培養し、培養物から培養上清を採取し、アフィニティークロマトグラフィー用ゲル(商品名『Ni-NTA』、キアジェン製)のカラムを用いてこの培養上清を分画し、1L-18結合蛋白質の存在が確認された画分を採取・合一し、1 \times 10⁷個の上記形質転換体より約2ml
- 10 の、精製1L-18結合蛋白質を含む水溶液を得た。この水溶液の蛋白質含量は約1 μ g/mlであった。この水溶液を、実施例1-2の方法にしたがって処理し、N末端アミノ酸配列を分析したところ、配列表における配列番号2におけるN末端部分のものと同一のアミノ酸配列が得られた。なお、対照として、組換えDNA『pEFH18BPH6』に
- 15 代えてプラスミドベクター『pEF-BOS』を用いて、本実施例と同様に処置したところ、1L-18結合蛋白質の存在は確認されなかった。以上の結果は、マウス由来の当該1L-18結合蛋白質が配列表における配列番号2に示すアミノ酸配列を有する場合があります、そして、当該蛋白質が、配列番号33に示す塩基配列によりコードされ得ることを裏付
- 20 けている。

以下、この発明の1L-18結合蛋白質を有効成分として含有する感受性疾患剤の実施例を具体的に説明する。

実施例5：液剤

- 25 安定剤としてパイロジェン除去した結晶性トレハロース粉末(商品名『トレハオース』、株式会社林原商事販売)を1%(w/v)含む生理

食塩水に実施例 1-1 又は実施例 2-2 の方法により得た精製 I L-18 結合蛋白質を 1 mg/ml になるように溶解した後、常法にしたがって除菌して、2 種類の液剤を得た。

安定性に優れた本品は、いずれも、自己免疫疾患、炎症性疾患及びアレルギー性疾患を含む感受性疾患を治療・予防するための注射剤、点眼剤、点鼻剤などとして有用である。

実施例 6：乾燥注射剤

安定剤としてパイロジェン除去したシュクロースを 1% (w/v) 含む生理食塩水 100 ml に実施例 1-1 又は実施例 2-2 の方法により得た精製 I L-18 結合蛋白質を 100 mg 溶解し、それぞれ、常法にしたがって除菌した後、バイアル瓶に 1 ml ずつ分注し、凍結乾燥し、密栓した。

安定性に優れた本品は、いずれも、自己免疫疾患、炎症性疾患及びアレルギー性疾患を含む感受性疾患を治療・予防するための乾燥注射剤として有用である。

実施例 7：軟膏剤

滅菌蒸留水にカルボキシビニルポリマー（商品名『ハイビスワコー』、和光純薬工業株式会社製造）及びパイロジェンを除去した結晶性トレハロース粉末（商品名『トレハオース』、株式会社林原商事販売）をそれぞれ濃度 1.4% (w/w) 及び 2.0% (w/w) になるように溶解し、実施例 1-1 又は実施例 2-2 の方法により得た精製 I L-18 結合蛋白質を均一に混合した後、pH 7.2 に調整して、1 g 当り I L-18 結合蛋白質を約 1 mg 含む 2 種類のペースト状物を得た。

延展性と安定性に優れた本品は、いずれも、自己免疫疾患、炎症性疾

患及びアレルギー性疾患を含む感受性疾患を治療・予防するための軟膏剤として有用である。

実施例 8：錠剤

- 5 パイロジェン除去した無水結晶 α -マルトース粉末（商品名『ファイントース』、株式会社林原商事販売）に実施例 1-1 又は実施例 2-2 の方法により得た精製 IL-18 結合蛋白質及び細胞賦活剤としてのルミンを均一に混合し、得られた混合物を常法にしたがって打錠して、製品 1 錠（約 200 mg）当り IL-18 結合蛋白質及びルミン（日本
10 感光色素株式会社製）をそれぞれ約 1 mg 含む 2 種類の錠剤を得た。

摂取性、安定性に優れ、細胞賦活作用も兼備する本品は、いずれも、自己免疫疾患、炎症性疾患及びアレルギー性疾患を含む感受性疾患を治療・予防するための錠剤として有用である。

15 実験：急性毒性試験

- 常法にしたがって、5 週齢の dd y マウス（体重 20 乃至 25 g）に実施例 1-1、2-2、3-1 及び 4-2 の方法により得た精製 IL-18 結合蛋白質を経口投与するか、腹腔内又は静脈内に注射投与した。その結果、これらの精製 IL-18 結合蛋白質の LD50 は、いずれの
20 投与経路によっても、約 1 mg / マウス 1 匹体重以上であった。ことことは、この発明の IL-18 結合蛋白質がヒトを含む哺乳類に投与する医薬品に配合して安全であることを物語っている。

産業上の利用可能性

- 25 以上説明したとおり、この発明は IL-18 に結合する新規な蛋白質の発見に基づくものである。この発明の蛋白質は、ヒトを含む哺乳類に

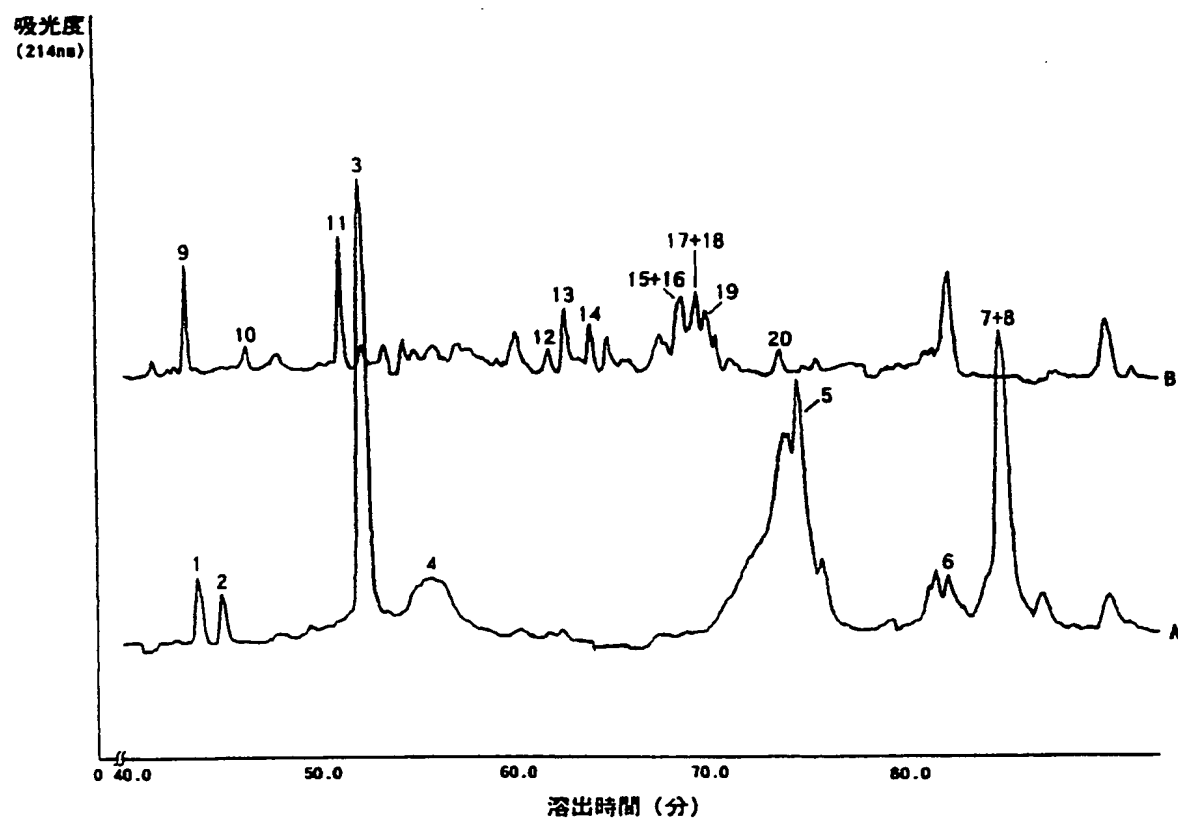
において、免疫系を活性化する IL-18 の生理作用を抑制する性質を有するので、臓器移植に伴う拒絶反応の緩和や、過剰な免疫反応に起因する種々の疾患の治療・予防に著効を発揮する。

請求の範囲

1. 配列表における配列番号 1 及び 2 に示すいずれかのアミノ酸配列の全部又は一部を含有するインターロイキン-18 結合蛋白質。
2. 部分アミノ酸配列として、配列表における配列番号 3 乃至 31 に示すいずれかのアミノ酸配列の全部又は一部を含有する請求の範囲第 1 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質。
3. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により測定すると、約 40,000 乃至 60,000 ダルトンの分子量を示す請求の範囲第 1 項又は第 2 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質。
4. 哺乳類の体液から得ることのできる請求の範囲第 1 項、第 2 項又は第 3 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質。
5. 請求の範囲第 1 項乃至第 4 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質をコードする DNA。
6. 配列表における配列番号 32 又は 33 に示すいずれかの塩基配列若しくはその塩基配列に相同的な塩基配列又はそれらの塩基配列に相補的な塩基配列を含有する請求の範囲第 5 項に記載の DNA。
7. 有効成分として、請求の範囲第 1 項乃至第 4 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質を含有するインターロイキン-18 抑制剤。
8. 有効成分として、請求の範囲第 1 項乃至第 4 項に記載のインターロイキン-18 結合蛋白質を含有する抗感受性疾患剤。
9. 抗免疫疾患剤としての請求の範囲第 8 項に記載の抗感受性疾患剤。

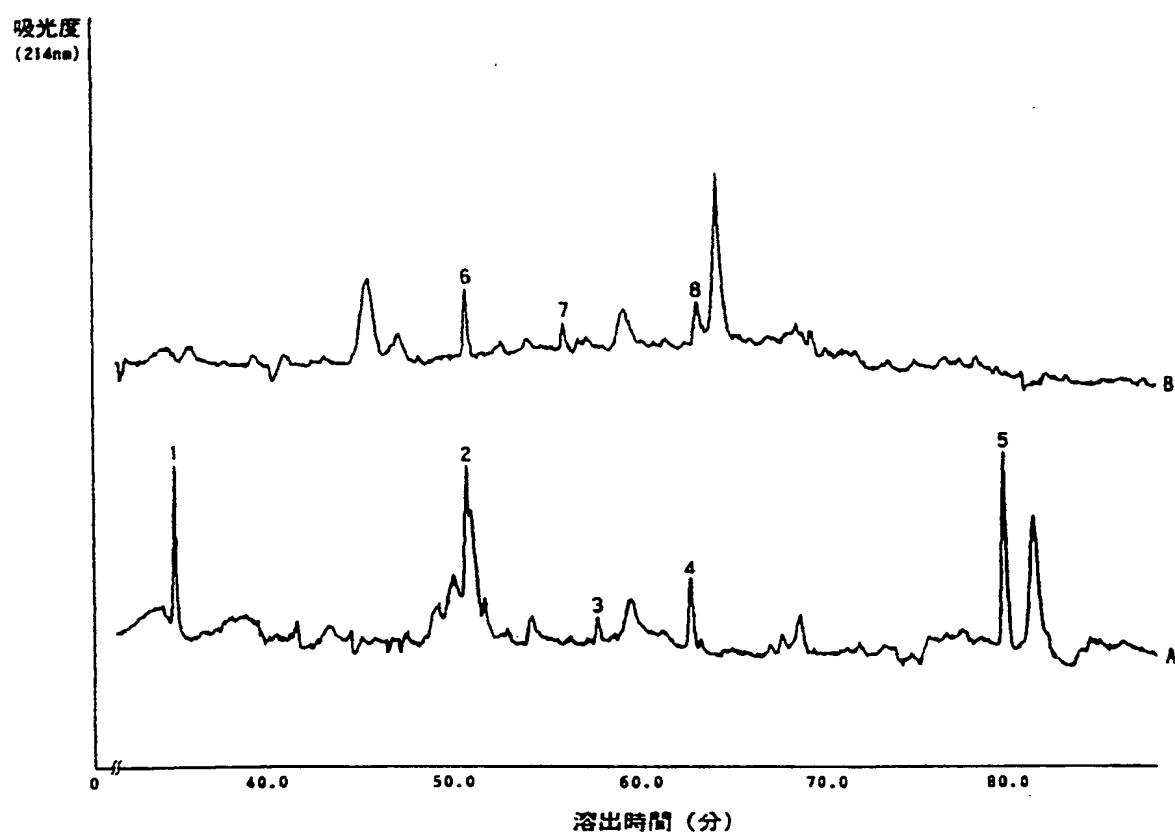
1/3

第 1 図



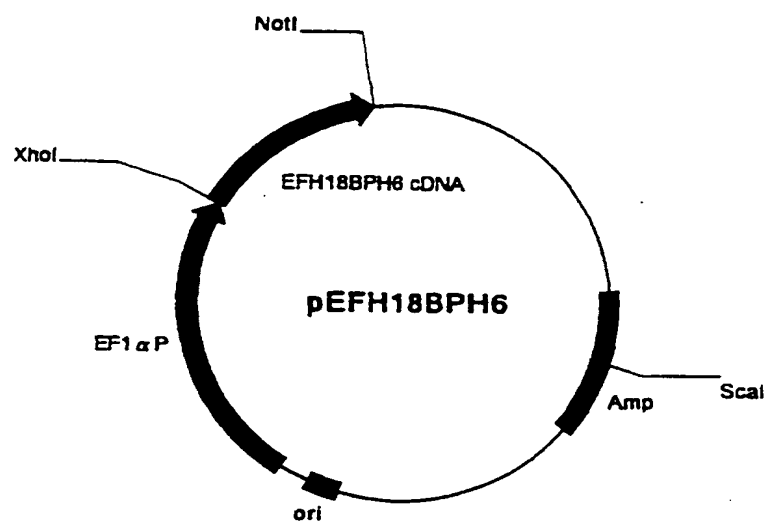
2/3

第2図

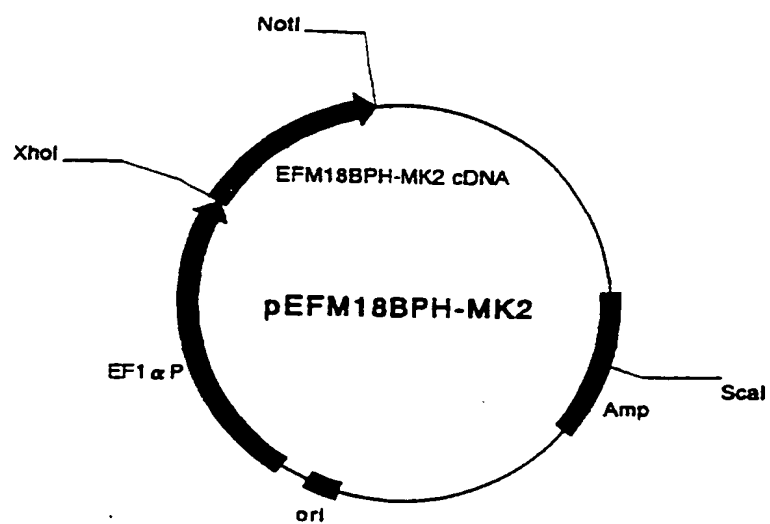


3/3

第3図



第4図



SEQUENCE LISTING

<110> Kabushiki Kaisha Hayashibara Seibutsu Kagaku Kenkyujo

<120> Interleukin-18-binding protein

<140> PCT/JP98/05186

<141> 1998-11-18

<150> JP 247,588/98

<151> 1998-09-01

<150> JP 327,914/98

<151> 1998-11-18

<160> 41

<210> 1

<211> 164

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser
1 5 10 15

Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys
20 25 30

Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu
35 40 45

Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn
50 55 60

Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu
65 70 75 80

Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr
85 90 95

Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala

100 105 110
 Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val
 115 120 125
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala
 130 135 140
 Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro
 145 150 155 160
 Gln Gln Gln Gly

<210> 2

<211> 165

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 2

Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr Gly Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr Lys Gln Tyr Pro
 20 25 30
 Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu Lys Glu Val Pro Leu Asn Gly Thr
 35 40 45
 Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys Ser Arg Phe Pro Tyr Phe Ser Ile
 50 55 60
 Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu Pro Gly Arg
 65 70 75 80
 Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg Glu His Arg Asn Thr Ser Thr Trp
 85 90 95
 Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg Ser
 100 105 110
 Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr
 115 120 125
 His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp Asp Gly Leu Lys Thr Ala Pro Ser
 130 135 140
 Pro Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser His Ser Pro Val Ser Arg Ser Ala
 145 150 155 160
 Gly Pro Gly Val Ala

165

<210> 3

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 6..8

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 11

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 13

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 16..17

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 3

Thr Pro Val Ser Gln Xaa Xaa Xaa Ala Ala Xaa Ala Xaa Val Arg Xaa

1

5

10

15

Xaa Lys Asp Pro Cys Pro

20

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Gly Ser Thr Gly Thr Gln Leu Cys Lys

1

5

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Glu Arg Gly Ser Thr Gly Thr Gln Leu Cys Lys

1

5

10

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg

1

5

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 6..8

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 11

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 13

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 7

Thr Pro Val Ser Gln Xaa Xaa Xaa Ala Ala Xaa Ala Xaa Val Arg

1

5

10

15

<210> 8

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 14

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 17..18

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 8

His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala Xaa Leu Pro

1

5

10

15

Xaa Xaa Gln Glu Ala Leu Pro

20

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 8..9

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 9

Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Xaa Xaa Ala

1

5

10

<210> 10

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 13..15

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 17..18

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 10

Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala Leu His Xaa Xaa Xaa Phe

1

5

10

15

Xaa Xaa Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val Val Gln Arg

20

25

<210> 11

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 5

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 10

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 11

Gln Cys Pro Ala Xaa Glu Val Thr Trp Xaa Glu Val

1

5

10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg

1

5

<210> 13

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Leu Val Asp Pro Glu Gln

1

5

<210> 14

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg

1

5

<210> 15

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

His Val Val Leu

1

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Glu Gln Leu Thr Pro Ala Leu

1

5

<210> 17

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg Leu

1

5

<210> 18

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 2

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 5

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 18

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly

1

5

<210> 19

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Phe Pro Asn Phe

1

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 2

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 5

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 7

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 20

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly Xaa Phe

1

5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 4..5

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 21

Glu Val Thr Xaa Xaa Glu Val

1

5

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 2

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 5

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 7

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 22

Tyr Xaa Leu Gly Xaa Gly Xaa Phe

1

5

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221> UNSURE

<222> 1..2

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 5..6

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 23

Xaa Xaa Val Ala Xaa Xaa Arg Phe Pro Asn Phe

1

5

10

<210> 24

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 24

Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg

1

5

<210> 25

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> UNSURE

<222> 4

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 25

Glu His Arg Xaa Thr Ser Thr Trp Leu His Arg

1

5

10

<210> 26

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> UNSURE

<222> 4

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<220>

<221> UNSURE

<222> 8

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 26

Glu His Arg Xaa Thr Ser Thr Xaa Leu His

1 5 10

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> UNSURE

<222> 1..8

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 27

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Ala Val Pro Thr Lys

1 5 10

<210> 28

<211> 12

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 28

Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

Ile Glu His Leu Pro Gly Arg

1 5

<210> 30

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220>

<221> UNSURE

<222> 1

<223> "Xaa" means an unidentified amino acid.

<400> 30

Xaa Asp Gly Leu Lys Thr

1

5

<210> 31

<211> 4

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

His Ile Ile Leu

1

<210> 32

<211> 492

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> mat peptide

<222> 1..492

<400> 32

aca cct gtc tcg cag acc acc aca gct gcc act gcc tca gtt aga agc 48

Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser

1

5

10

15

aca aag gac ccc tgc ccc tcc cag ccc cca gtg ttc cca gca gct aag 96
 Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys

20

25

30

cag tgt cca gca ttg gaa gtg acc tgg cca gag gtg gaa gtg cca ctg 144
 Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu

35

40

45

aat gga acg ctg agc tta tcc tgt gtg gcc tgc agc cgc ttc ccc aac 192
 Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn

50

55

60

ttc agc atc ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc ttc att gag cac ctc 240
 Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu

65

70

75

80

cca ggc cga ctg tgg gag ggg agc acc agc cgg gaa cgt ggg agc aca 288
 Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr

85

90

95

ggt acg cag ctg tgc aag gcc ttg gtg ctg gag cag ctg acc cct gcc 336
 Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala

100

105

110

ctg cac agc acc aac ttc tcc tgt gtg ctc gtg gac cct gaa cag gtt 384
 Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val

115

120

125

gtc cag cgt cac gtc gtc ctg gcc cag ctc tgg gct ggg ctg agg gca 432
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala

130

135

140

acc ttg ccc ccc acc caa gaa gcc ctg ccc tcc agc cac agc agt cca 480
 Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro

145

150

155

160

cag cag cag ggt 492
Gln Gln Gln Gly

<210> 33

<211> 495

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> mat peptide

<222> 1..495

<400> 33

aca tct gca cct cag aca act gcc act gtc tta act gga agc tca aaa 48
Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr Gly Ser Ser Lys
1 5 10 15

gac cca tgc tct tcc tgg tct cca gca gtc cca act aag cag tac cca 96
Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr Lys Gln Tyr Pro
20 25 30

gca ctg gat gtg att tgg cca gaa aaa gaa gtg cca ctg aat gga act 144
Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu Lys Glu Val Pro Leu Asn Gly Thr
35 40 45

ctg acc ttg tcc tgt act gcc tgc agc cgc ttc ccc tac ttc agc atc 192
Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys Ser Arg Phe Pro Tyr Phe Ser Ile
50 55 60

ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc ttc att gag cac ctt cca ggc cgg 240
Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu Pro Gly Arg
65 70 75 80

ctg aag gag ggc cac aca agt cgc gag cac agg aac aca agc acc tgg 288
Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg Glu His Arg Asn Thr Ser Thr Trp

85	90	95	
ctg cac agg gcc ttg gtg ctg gaa gaa ctg agc ccc acc cta cga agt			336
Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg Ser			
100	105	110	
acc aac ttc tcc tgt ttg ttt gtg gat cct gga caa gtg gcc cag tat			384
Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr			
115	120	125	
cac atc att ctg gcc cag ctc tgg gat ggg ttg aag aca gct ccg tcc			432
His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp Asp Gly Leu Lys Thr Ala Pro Ser			
130	135	140	
cct tct caa gaa acc ctc tct agc cac agc cca gta tcc aga tca gca			480
Pro Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser His Ser Pro Val Ser Arg Ser Ala			
145	150	155	160
ggc cca ggg gtt gca			495
Gly Pro Gly Val Ala			
165			
 <210> 34			
<211> 411			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
 <400> 34			
aca cct gtc tcg cag acc acc aca gct gcc act gcc tca gtt aga agc			48
Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser			
1	5	10	15
aca aag gac ccc tgc ccc tcc cag ccc cca gtg ttc cca gca gct aag			96
Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys			
20	25	30	

cag tgt cca gca ttg gaa gtg acc tgg cca gag gtg gaa gtg cca ctg 144
 Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu
 35 40 45

aat gga acg ctg agc tta tcc tgt gtg gcc tgc agc cgc ttc ccc aac 192
 Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn
 50 55 60

ttc agc atc ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc ttc att gag cac ctc 240
 Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu
 65 70 75 80

cca ggc cga ctg tgg gag ggg agc acc agc cgg gaa cgt ggg agc aca 288
 Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr
 85 90 95

ggt acg cag ctg tgc aag gcc ttg gtg ctg gag cag ctg acc cct gcc 336
 Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala
 100 105 110

ctg cac agc acc aac ttc tcc tgt gtg ctc gtg gac cct gaa cag gtt 384
 Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val
 115 120 125

gtc cag cgt cac gtc gtc ctg gcc cag 411
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln
 130 135

<210> 35

<211> 216

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 35

tgtgtgactg gagaagagga cgttgtcaca gataaagagc caggctcacc agctcctgac 60

gcatgcatc atg acc atg aga cac aac tgg aca cca gac ctc agc cct ttg 111

Met Thr Met Arg His Asn Trp Thr Pro Asp Leu Ser Pro Leu

1

5

10

tgg gtc ctg ctc ctg tgt gcc cac gtc gtc act ctc ctg gtc aga gcc 159

Trp Val Leu Leu Leu Cys Ala His Val Val Thr Leu Leu Val Arg Ala

15

20

25

30

aca cct gtc tcg cag acc acc aca gct gcc act gcc tca gtt aga agc 207

Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser

35

40

45

aca aag gac

216

Thr Lys Asp

<210> 36

<211> 234

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 36

ttc tcc tgt gtg ctc gtg gac cct gaa cag gtt gtc cag cgt cac gtc 48

Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val Val Gln Arg His Val

1

5

10

15

gtc ctg gcc cag ctc tgg gct ggg ctg agg gca acc ttg ccc ccc acc 96

Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala Thr Leu Pro Pro Thr

20

25

30

caa gaa gcc ctg ccc tcc agc cac agc agt cca cag cag cag ggt 141

Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro Gln Gln Gln Gly

35

40

45

taagactcag cacagggcca gcagcagcac aaccttgacc agagcttggg tcctacctgt 201

ctacctggag tgaacagtcc ctgactgcct gta

234

<210> 37

<211> 744

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<221> mat peptide

<222> 160..651

<400> 37

tgtgtgactg gagaagagga cgttgtcaca gataaagagc caggctcacc agctcctgac 60

gcatgcatc atg acc atg aga cac aac tgg aca cca gac ctc agc cct ttg 111

Met Thr Met Arg His Asn Trp Thr Pro Asp Leu Ser Pro Leu

-30

-25

-20

tgg gtc ctg ctc ctg tgt gcc cac gtc gtc act ctc ctg gtc aga gcc 159

Trp Val Leu Leu Leu Cys Ala His Val Val Thr Leu Leu Val Arg Ala

-15

-10

-5

aca cct gtc tcg cag acc acc aca gct gcc act gcc tca gtt aga agc 207

Thr Pro Val Ser Gln Thr Thr Thr Ala Ala Thr Ala Ser Val Arg Ser

1

5

10

15

aca aag gac ccc tgc ccc tcc cag ccc cca gtg ttc cca gca gct aag 255

Thr Lys Asp Pro Cys Pro Ser Gln Pro Pro Val Phe Pro Ala Ala Lys

20

25

30

cag tgt cca gca ttg gaa gtg acc tgg cca gag gtg gaa gtg cca ctg 303

Gln Cys Pro Ala Leu Glu Val Thr Trp Pro Glu Val Glu Val Pro Leu

35

40

45

aat gga acg ctg agc tta tcc tgt gtg gcc tgc agc cgc ttc ccc aac 351

Asn Gly Thr Leu Ser Leu Ser Cys Val Ala Cys Ser Arg Phe Pro Asn

50

55

60

ttc agc atc ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc ttc att gag cac ctc 399
 Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His Leu
 65 70 75 80

cca ggc cga ctg tgg gag ggg agc acc agc cgg gaa cgt ggg agc aca 447
 Pro Gly Arg Leu Trp Glu Gly Ser Thr Ser Arg Glu Arg Gly Ser Thr
 85 90 95

ggt acg cag ctg tgc aag gcc ttg gtg ctg gag cag ctg acc cct gcc 495
 Gly Thr Gln Leu Cys Lys Ala Leu Val Leu Glu Gln Leu Thr Pro Ala
 100 105 110

ctg cac agc acc aac ttc tcc tgt gtg ctc gtg gac cct gaa cag gtt 543
 Leu His Ser Thr Asn Phe Ser Cys Val Leu Val Asp Pro Glu Gln Val
 115 120 125

gtc cag cgt cac gtc gtc ctg gcc cag ctc tgg gct ggg ctg agg gca 591
 Val Gln Arg His Val Val Leu Ala Gln Leu Trp Ala Gly Leu Arg Ala
 130 135 140

acc ttg ccc ccc acc caa gaa gcc ctg ccc tcc agc cac agc agt cca 639
 Thr Leu Pro Pro Thr Gln Glu Ala Leu Pro Ser Ser His Ser Ser Pro
 145 150 155 160

cag cag cag ggt taagactcag cacagggcca gcagcagcac aaccttgacc 691
 Gln Gln Gln Gly

agagcttggg tcctacctgt ctacctggag tgaacagtcc ctgactgcct gta 744

<210> 38

<211> 351

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 38



gca gtc cca act aag cag tac cca gca ctg gat gtg att tgg cca gaa 48
 Ala Val Pro Thr Lys Gln Tyr Pro Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu
 1 5 10 15

aaa gaa gtg cca ctg aat gga act ctg acc ttg tcc tgt act gcc tgc 96
 Lys Glu Val Pro Leu Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys
 20 25 30

agc cgc ttc ccc tac ttc agc atc ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc 144
 Ser Arg Phe Pro Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser
 35 40 45

ttc att gag cac ctt cca ggc cgg ctg aag gag ggc cac aca agt cgc 192
 Phe Ile Glu His Leu Pro Gly Arg Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg
 50 55 60

gag cac agg aac aca agc acc tgg ctg cac agg gcc ttg gtg ctg gaa 240
 Glu His Arg Asn Thr Ser Thr Trp Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu
 65 70 75 80

gaa ctg agc ccc acc cta cga agt acc aac ttc tcc tgt ttg ttt gtg 288
 Glu Leu Ser Pro Thr Leu Arg Ser Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val
 85 90 95

gat cct gga caa gtg gcc cag tat cac atc att ctg gcc cag ctc tgg 336
 Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp
 100 105 110

gat ggg ttg aag aca 351
 Asp Gly Leu Lys Thr
 115

<210> 39

<211> 336

<212> DNA

<213> Mus musculus



<400> 39

ctgagcctta gagctccaag aagctattcg gggcttagga gccagaagct gactgctgcc 60

tgcccttccc agaaggaggc tggcaagctg gcaaacggac tgttgcttcc cagaggaagt 120

cacagacacc agacttgctt gcaagtcata atg acc atg aga cac tgc tgg aca 174

Met Thr Met Arg His Cys Trp Thr

1

5

gca ggc ccc agt tct tgg tgg gtc ctg ctt ttg tat gtc cat gtc att 222

Ala Gly Pro Ser Ser Trp Trp Val Leu Leu Leu Tyr Val His Val Ile

10

15

20

ttg gcc aga gcc aca tct gca cct cag aca act gcc act gtc tta act 270

Leu Ala Arg Ala Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr

25

30

35

40

gga agc tca aaa gac cca tgc tct tcc tgg tct cca gca gtc cca act 318

Gly Ser Ser Lys Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr

45

50

55

aag cag tac cca gca ctg

336

Lys Gln Tyr Pro Ala Leu

60

<210> 40

<211> 253

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 40

gat cct gga caa gtg gcc cag tat cac atc att ctg gcc cag ctc tgg 48

Asp Pro Gly Gln Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp

1

5

10

15

gat ggg ttg aag aca gct ccg tcc cct tct caa gaa acc ctc tct agc 96
 Asp Gly Leu Lys Thr Ala Pro Ser Pro Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser

20

25

30

cac agc cca gta tcc aga tca gca ggc cca ggg gtt gca taaagccaac 145
 His Ser Pro Val Ser Arg Ser Ala Gly Pro Gly Val Ala

35

40

45

cacaccatga ccttgaccag agcctggctc tcattctacct ggagggtgga gtctacacca 205

taggctgtga ttgcctttct gctgctgaac ctcaaactca agcttcac 253

<210> 41

<211> 847

<212> DNA

<213> Mus musculus

<220>

<221> mat peptide

<222> 235..729

<400> 41

ctgagcctta gagctccaag aagctattcg gggcttagga gccagaagct gactgctgcc 60

tgcccttccc agaaggaggc tggcaagctg gcaaacggac tgttgcttcc cagaggaagt 120

cacagacacc agacttgctt gcaagtcata atg acc atg aga cac tgc tgg aca 174

Met Thr Met Arg His Cys Trp Thr

-25

gca ggc ccc agt tct tgg tgg gtc ctg ctt ttg tat gtc cat gtc att 222

Ala Gly Pro Ser Ser Trp Trp Val Leu Leu Leu Tyr Val His Val Ile

-20

-15

-10

-5

ttg gcc aga gcc aca tct gca cct cag aca act gcc act gtc tta act 270

Leu Ala Arg Ala Thr Ser Ala Pro Gln Thr Thr Ala Thr Val Leu Thr



1

5

10

gga agc tca aaa gac cca tgc tct tcc tgg tct cca gca gtc cca act 318
 Gly Ser Ser Lys Asp Pro Cys Ser Ser Trp Ser Pro Ala Val Pro Thr

15

20

25

aag cag tac cca gca ctg gat gtg att tgg cca gaa aaa gaa gtg cca 366
 Lys Gln Tyr Pro Ala Leu Asp Val Ile Trp Pro Glu Lys Glu Val Pro

30

35

40

ctg aat gga act ctg acc ttg tcc tgt act gcc tgc agc cgc ttc ccc 414
 Leu Asn Gly Thr Leu Thr Leu Ser Cys Thr Ala Cys Ser Arg Phe Pro

45

50

55

60

tac ttc agc atc ctc tac tgg ctg ggc aat ggt tcc ttc att gag cac 462
 Tyr Phe Ser Ile Leu Tyr Trp Leu Gly Asn Gly Ser Phe Ile Glu His

65

70

75

ctt cca ggc cgg ctg aag gag ggc cac aca agt cgc gag cac agg aac 510
 Leu Pro Gly Arg Leu Lys Glu Gly His Thr Ser Arg Glu His Arg Asn

80

85

90

aca agc acc tgg ctg cac agg gcc ttg gtg ctg gaa gaa ctg agc ccc 558
 Thr Ser Thr Trp Leu His Arg Ala Leu Val Leu Glu Glu Leu Ser Pro

95

100

105

acc cta cga agt acc aac ttc tcc tgt ttg ttt gtg gat cct gga caa 606
 Thr Leu Arg Ser Thr Asn Phe Ser Cys Leu Phe Val Asp Pro Gly Gln

110

115

120

gtg gcc cag tat cac atc att ctg gcc cag ctc tgg gat ggg ttg aag 654
 Val Ala Gln Tyr His Ile Ile Leu Ala Gln Leu Trp Asp Gly Leu Lys

125

130

135

140

aca gct ccg tcc cct tct caa gaa acc ctc tct agc cac agc cca gta 702
 Thr Ala Pro Ser Pro Ser Gln Glu Thr Leu Ser Ser His Ser Pro Val



145

150

155

tcc aga tca gca ggc cca ggg gtt gca taaagccaac cacaccatga 749

Ser Arg Ser Ala Gly Pro Gly Val Ala

160

165

ccttgaccag agcctggctc tcattctacct ggaggggtgga gtctacacca taggctgtga 809

ttgcctttct gctgctgaac ctcaaactca agcttcac 847



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/05186

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ C07K14/54, C12P21/02, C12N15/24, A61K38/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ C07K14/54, C12P21/02, C12N15/24, A61K38/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, WPI (DIALOG),
BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Mark D. Adams et al., "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature (1995) Vol. 377, No. 6547 suppl. p.3-174	1-9
A	Ushio Shimpei et al, "Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein", Journal of Immunology (1996) Vol. 156, No. 11 p.4274-4279	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 February, 1999 (17. 02. 99)

Date of mailing of the international search report
2 March, 1999 (02. 03. 99)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C 07 K 14/54, C 12 P 21/02, C 12 N 15/24, A 61 K 38/20

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C 07 K 14/54, C 12 P 21/02, C 12 N 15/24, A 61 K 38/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
WPI(DIALOG), BIOSIS(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Mark D.Adams et al. "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature (1995) Vol.377, No.6547 suppl. p.3-174	1-9
A	Ushio Shimpei et al. "Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein", Journal of Immunology (1996) Vol.156, No.11 p.4274-4279	1-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.02.99

国際調査報告の発送日

02.03.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明

4 B

9 6 3 7

電話番号 03-3581-1101 内線 3449



4
5
6

7
8
9

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference WO 599	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/05186	International filing date (day/month/year) 18 November 1998 (18.11.98)	Priority date (day/month/year) 01 September 1998 (01.09.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 14/54, C12P 21/02, C12N 15/24, A61K 38/20		
Applicant KABUSHIKI KAISHA HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 31 March 2000 (31.03.00)	Date of completion of this report 20 November 2000 (20.11.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/05186

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/05186

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-9	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-9	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-9	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: Nature, 1995, Vol. 377, No. 6547 suppl., pages 3-174

Document 2: Journal of Immunology, 1996, Vol. 156, No. 11, pages 4274-4279

The subject matter of claims 1-9 is considered to involve an inventive step when compared with documents 1 and 2 cited in the ISR. The interleukin-18-binding protein is neither disclosed in either of documents 1 or 2, nor is it considered that it could easily be conceived of by a person skilled in the art based on said documents.

特 許 協 力 条 約

発信人 日本国特許庁（国際予備審査機関）

出願人 株式会社林原生物化学研究所 あて名 〒 700-0907 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号	殿
---	---

PCT

国際予備審査報告の送付の通知書

（法施行規則第57条）
〔PCT規則71.1〕

発送日
（日.月.年）

28.11.00

出願人又は代理人 の書類記号 WO599	重要な通知	
国際出願番号 PCT/J P 98/05186	国際出願日 （日.月.年） 18.11.98	優先日 （日.月.年） 01.09.98
出願人（氏名又は名称） 株式会社林原生物化学研究所		
<p>1. 国際予備審査機関は、この国際出願に関して国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、それらをこの送付書とともに送付することを、出願人に通知する。</p> <p>2. 国際予備審査報告及び付属書類が作成されている場合には、すべての選択官庁に通知するために、それらの写しを国際事務局に送付する。</p> <p>3. 選択官庁から要求があったときは、国際事務局は国際予備審査報告（付属書類を除く）の英語の翻訳文を作成し、それをその選択官庁に送付する。</p> <p>4. 注 意</p> <p>出願人は、各選択官庁に対し優先日から30月以内に（官庁によってはもっと遅く）所定の手続（翻訳文の提出及び国内手数料の支払い）をしなければならない（PCT39条（1））（様式PCT/IB/301とともに国際事務局から送付された注を参照）。</p> <p>国際出願の翻訳文が選択官庁に提出された場合には、その翻訳文は、国際予備審査報告の付属書類の翻訳文を含まなければならない。</p> <p>この翻訳文を作成し、関係する選択官庁に直接送付するのは出願人の責任である。</p> <p>選択官庁が適用する期間及び要件の詳細については、PCT出願人の手引き第Ⅱ巻を参照すること。</p>		

名称及びあて名 日本国特許庁（IPEA/J P） 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員 特 許 庁 長 官	4 N	9 6 3 7
電話番号 03-3581-1101 内線 3488			

特 許 協 力 条 約

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 WO599	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P98/05186	国際出願日 (日.月.年) 18.11.98	優先日 (日.月.年) 01.09.98
国際特許分類(IPC) Int.Cl ⁷ C07K14/54, C12P21/02, C12N15/24, A61K38/20		
出願人(氏名又は名称) 株式会社林原生物化学研究所		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。 I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.03.00	国際予備審査報告を作成した日 20.11.00	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 本間 夏子	4N 9637 電話番号 03-3581-1101 内線 3488

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☒ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-9

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

1-9

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-9

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: Nature (1995) Vol. 377 No. 6547 suppl. p. 3-174

文献2: Journal of Immunology (1996) Vol. 156 No. 11 p. 4274-4279

請求の範囲1～9に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1～2に対して進歩性を有する。文献1～2にはインターロイキン18結合蛋白質が記載されておらず、しかもその点は文献1～2から当業者といえども容易に想到し得ないものである。

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 04 DEC 2000

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 WO599	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 98/05186	国際出願日 (日.月.年) 18.11.98	優先日 (日.月.年) 01.09.98
国際特許分類 (IPC) Int.Cl ⁷ C07K14/54, C12P21/02, C12N15/24, A61K38/20		
出願人 (氏名又は名称) 株式会社林原生物化学研究所		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 31.03.00	国際予備審査報告を作成した日 20.11.00	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 本間 夏子	4N 9637
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

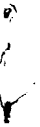
- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語
3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☒ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-9	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲	1-9	有
	請求の範囲		無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-9	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

文献1: Nature (1995) Vol. 377 No. 6547 suppl. p. 3-174

文献2: Journal of Immunology (1996) Vol. 156 No. 11 p. 4274-4279

請求の範囲1～9に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1～2に対して進歩性を有する。文献1～2にはインターロイキン18結合蛋白質が記載されておらず、しかもその点は文献1～2から当業者といえども容易に想到し得ないものである。



EP



PCT

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 WO 5 9 9	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/05186	国際出願日 (日.月.年) 18. 11. 98	優先日 (日.月.年) 01. 09. 98
出願人(氏名又は名称) 株式会社林原生物化学研究所		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし
☐ 出願人は図を示さなかった。
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C07K 14/54, C12P 21/02, C12N 15/24, A61K 38/20

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ C07K 14/54, C12P 21/02, C12N 15/24, A61K 38/20

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq,
WPI(DIALOG), BIOSIS(DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Mark D. Adams et al. "Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides of cDNA sequence", Nature (1995) Vol. 377, No. 6547 suppl. p. 3-174	1-9
A	Ushio Shimpei et al. "Cloning of the cDNA for human IFN-gamma-inducing factor, expression in Escherichia coli, and studies on the biologic activities of the protein", Journal of Immunology (1996) Vol. 156, No. 11 p. 4274-4279	1-9

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17.02.99

国際調査報告の発送日

02.03.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

小暮 道明

4B

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3449

